

THESIS

MUNICH

1964

Untersuchungen über die erythropoetische Wirkung
des 11-Dehydrocorticosterons
auf menschliches Knochenmark in Vitro

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA

Herbert Singer

AUS DER II. MED. KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. Dr. G. B o d e c h t e l

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ERYTHROPOETISCHE WIRKUNG
DES 11-DEHYDROCORTICOSTERONS AUF MENSCHLICHES
KNOCHENMARK IN VITRO

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Herbert Singer

aus

Nürnberg

1964

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Berichterstatter: Oberarzt Priv. Doz. Dr. H.G. Borchers

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. G. Bodechtel

Dekan: Prof. Dr. O. Hug

Tag der mündlichen Prüfung: 8.10.1964

Überblicken wir den Entwicklungsgang der Hämatologie, so müssen wir an den Beginn die fundamentale Erkenntnis des Knochenmarkes als Blutbildungsstätte durch N e u m a n n und gleichzeitig durch B i z o z z e r o im Jahre 1868 stellen. Durch diese Erkenntnis wurde es möglich, die klinischen Befunde der Blutkrankheiten mit den pathologischen Veränderungen, wie der leukämischen Umgestaltung (Virchow), der roten Umwandlung des gelben Fettmarkes bei Anämien, der Megaloblastose bei Perniciosa in einen Kausalzusammenhang zu bringen. E h r l i c h , N a e g e l i und der Pathologe S c h r i d d e wiesen immer wieder auf die innigen Zusammenhänge der Blutbefunde mit den Markveränderungen hin, die besonders bei Sektionen von an Blutkrankheiten Verstorbener studiert wurden.

Alle diese Befunde mußten zunächst auf den makroskopischen Bereich beschränkt bleiben, da die uns heute bekannten Differentialfärbungen unbekannt waren und somit eine Unterscheidung der einzelnen Zellarten unmöglich war.

Die Einführung der mikroskopischen Untersuchung des Blutes zu diagnostischen Zwecken blieb E h r l i c h vorbehalten. Er führte die ersten elektiven Färbungen an Blutaussstrichen mit den in den 60-er Jahren des vorigen Jahrhunderts entwickelten Anilinfarbstoffen durch. Er fand in den 80-er Jahren unter anderem die neutrophilen Leucocyten, die Blutmastzellen, die Eosinophilen und die Lymphocyten.

Die Untersuchungen E h r l i c h s über die "roten Blutscheiben" führten zu dem Ergebnis, daß bei allen Formen schwerer Anämien, gleichgültig welcher Genese, kernhaltige rote Blutkörperchen, "Erythroblasten", im strömenden Blut auftreten.

E h r l i c h unterschied 3 Arten: die Normoblasten in der Größe der normalen "roten Blutscheiben", die Megaloblasten und die seltenen Mikro- und Poikiloblasten.

Nachdem nun die Möglichkeit gegeben war, die einzelnen Elemente des Blutes und des Knochenmarkes zu differenzieren, tauchte natürlich die Frage nach ihrer Abstammung auf. Im Laufe der Jahre entwickelten sich 3 verschiedene Auffassungen. Sie unterscheiden sich vor allem in der Frage, inwieweit der erwachsene Organismus auf embryonale Verhältnisse zurückgreifen kann, bzw. ob gewisse Zellformen auch postnatal eine pluripotente Entwicklung einschlagen können.

Die U n i t a r i e r , als Vertreter der monophyletischen Lehre leiten sämtliche Blutelemente von einer gemeinsamen Stammzelle, einem Polyblasten ab. Die Anhänger dieser Auffassung sind vor allem W e i d e n r e i c h , M a x i m o w , F e r r a t a , v. P a p p e n h e i m und v. M ö l l e n d o r f f .

Die polyphyletische Lehre wurde von E h r l i c h begründet und später von S c h r i d d e u. a. weiter ausgebaut. Die D u a l i s t e n nehmen für das myeloische und lymphatische Gewebe zwei getrennte Stammzellen, den Myeloblasten und Lymphoblasten, an.

Die trialistische Lehre fußt auf einer weiteren Differenzierung der Stammzellen. Nach ihrer Auffassung stellt der Blutmonocyt einen Abkömmling des R.E.S. dar. Die bekanntesten Vertreter dieser Richtung sind P i n e y , S a b i n und vor allem S c h i l l i n g .

Natürlich versuchte jede dieser drei Richtungen ihre Auffassung zu beweisen.

Die Unitarier stützen sich bei der Begründung ihrer Lehre hauptsächlich auf die Entwicklungsgeschichte und vor allem auf tierexperimentelle Untersuchungen und Gewebekulturen, weniger auf klinische Erfahrungen.

Die Dualisten hingegen basieren vorwiegend auf klinischen und morphologischen Untersuchungen am Menschen und erst in zweiter Linie auf embryologischen und tierexperimentellen Ergebnissen.

Eine entschiedenere Stellungnahme zu diesen Fragen erlaubten erst die Beobachtungen am vitalen Knochenmarksgewebe unter normalen und pathologischen Umständen.

Ermöglicht wurden diese Beobachtungen erst, als man daran ging, Knochenmark vom lebenden Menschen zu gewinnen.

Im Jahre 1903 punktierte P i a n e s e zur Diagnose parasitärer Erkrankungen (Malaria) die untere Femurepiphyse. Im gleichen Jahre empfiehlt W o l f f die Punktion der Tibia. 1908 beschreibt G h e d i n i die genaue Technik der Knochenmarkstrepanation am oberen Drittel der Tibia.

Diese Methoden zur Gewinnung von Knochenmark am Lebenden fanden jedoch sehr wenig Widerhall, bis S e y f a r t h 1923 die Sternal- bzw. Rippentrepanation einführte. Diese Methode ergab nun nicht nur für parasitologische Untersuchungen, für die sie ursprünglich gedacht war, sondern auch für das Studium der Blutkrankheiten gute Ergebnisse.

Trotz dieses Fortschrittes blieb die Ausführung auf wenige Erfahrene beschränkt, da auch diese Methode häufig unangenehme Komplikationen zur Folge hatte. Erst als A r i n k i n 1929 die auch heute noch gebräuchliche Sternalpunktion einführte, war der Weg für breitangelegte Knochenmarkuntersuchungen bereitet.

Lange Zeit blieb die Hämatologie eine im wesentlichen morphologische Wissenschaft. Man beschränkte sich auf die symptomatisch-morphologische Beschreibung der krankhaften Veränderungen des Blutes und deren Korrelation mit den pathologisch-anatomischen Befunden an den blutbildenden Organen. Auch die qualitativen Zusammenhänge innerhalb der verschiedenen hämopoetischen Systeme wurden genauer festgelegt.

Hierin ist in den letzten Jahrzehnten ein großer Wandel eingetreten, indem die Hämatologie versuchte, auch die quantitativen Zusammenhänge der Hämopoese zu erforschen.

R o h r hat sich 1940 als erster grundsätzliche Gedanken über die verschiedenen Teilungsarten dieser Systeme gemacht.

Das Rohrsche Teilungsschema der Erythropoese sah folgenden Ablauf:

Im fötalen Leben und unter verschiedenen pathologischen Bedingungen teilen sich die Erythroblasten heteroplastisch. Im postfötalen Leben folgt auf eine Anzahl homoplastischer Teilungen bei einzelnen Erythroblasten ein reiner Reifungsprozeß.

Allein dieses Modell mußte auf viele Fragen eine Antwort schuldig bleiben und obwohl zahlreiche Hämatologen, u.a. 1949 noch Z u e l z e r , sich dieser Vorstellung angeschlossen, darf dieses Modell heute als nicht richtig angesehen werden.

1951 entwickelte S c h w a r z vier denkbare Teilungsschemata für die Erythropoese, deren Brauchbarkeit er an Hand der von ihm gewonnenen Meßwerte überprüfte.

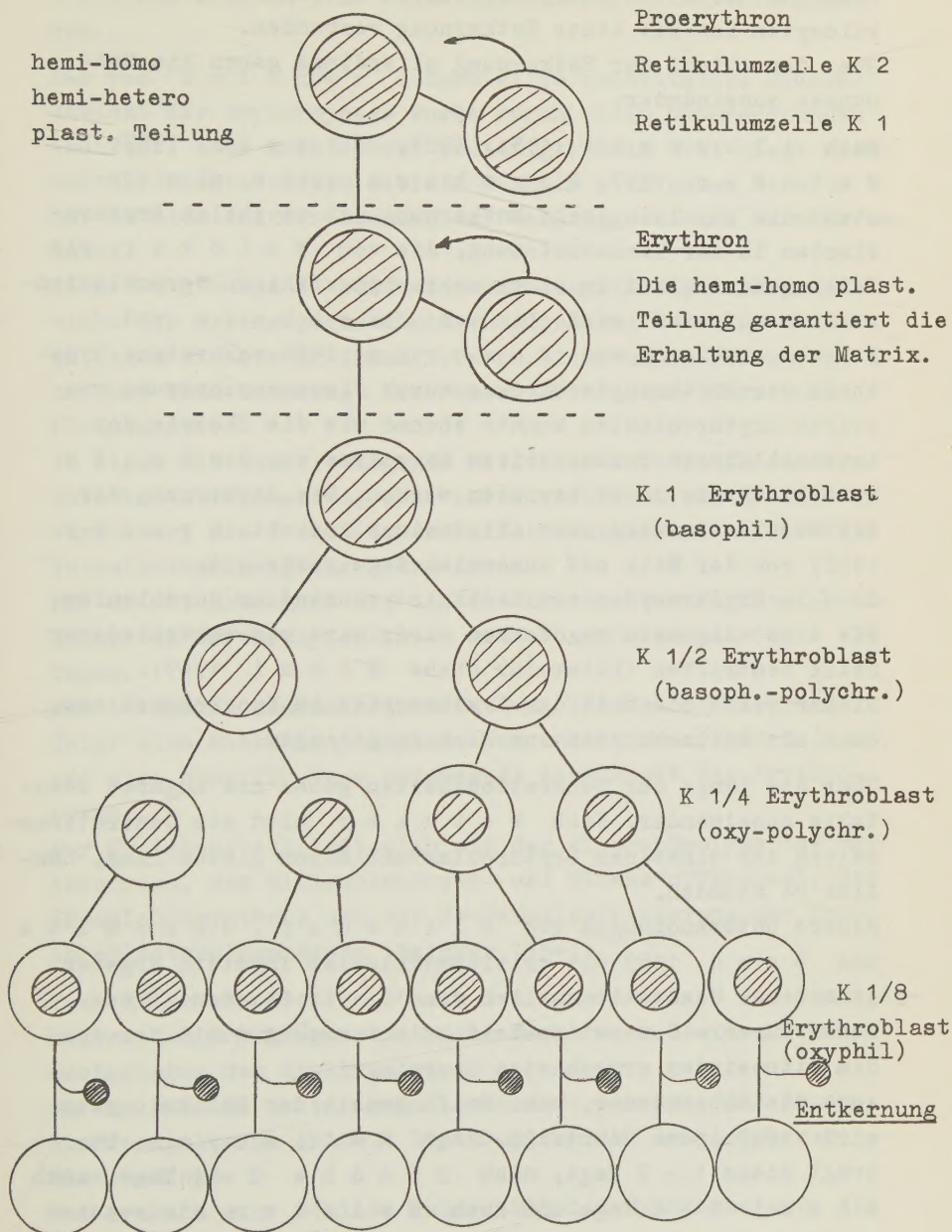
Aber auch diese Schemen konnten nicht voll auf befriedigen. L e i b e t s e d e r wies bereits 1948 nach, daß die Erythropoese einem Succedanzprinzip gehorcht. Beim Auszählen von Erythroblasten stellte er fest, daß sich die Anzahl der zu den einzelnen Kernklassen gehörigen Zellen umgekehrt proportional zu den Kernvolumina verhielt.

1951 wurden diese Ergebnisse von W o l f e r s bestätigt. Schließlich gelang es W e i c k e r in den Jahren 1953 - 1955 durch breitangelegte quantitative Studien, unter Berücksichtigung der Kernvolumen-Verteilungen J a c o b j s , als auch der Zellmaße - Proerythroblasten-Erythroblastenrelation - von S c h w a r z und der übrigen von Schwarz 1951 eingeführten quantitativen Kriterien, die Diskrepanzen aufzulösen, die zwischen den auf verschiedenen Wegen gewonnenen Ergebnissen bestanden.

Kern- und Zellwachstum der Erythropoese vollziehen sich nach W e i c k e r in einem ganz bestimmten Rhythmus. Der Proerythroblast teilt sich hemi-homoplastisch. Der eine daraus resultierende K 1-Erythroblast regeneriert wieder zum Proerythroblasten K 2. Der zweite K 1-Erythroblast teilt sich und es entstehen zwei Erythroblasten der Kernklasse K 1 / 2. Die Erythroblasten K 1 / 2 teilen sich in zwei Erythroblasten K 1 / 4 und diese wiederum in zwei Erythroblasten K 1 / 8.

Das quantitative Modell der Erythropoese (Erythron)

nach Weicker (1954).



Diese drei zwangsläufig aufeinanderfolgenden Teilungen werden als Succedan- oder auch Reifeteilungen bezeichnet. Der Übergang des K 1 / 8 Erythroblasten in den kernlosen Retikuloocyten ist mit einer Entkernung verbunden.

Über den Ablauf der Entkernung allerdings gehen die Meinungen auseinander.

Nach A l b r e c h t 1951, 1953, B e s s i s 1957, W e i c k e r 1957, B o r c h e r s 1952 u. v. a. besteht die physiologische Entkernung des oxyphilen Erythroblasten in der Kernausstoßung, die von W e i c k e r als Teilungsäquivalent im nicht mehr mitosefähigen Normoblastenstadium aufgefaßt wird. Die von J a c o b s e n und P l u m 1942 und von B o s t r ö m 1948 vertretene Hypothese der Erythrocytenbildung durch Plasmaabschnürung von reifen Erythroblasten konnte ebenso wie die Theorie der intrazellulären fermentativen Karyolyse von U n d r i t z 1946 bis heute nicht bewiesen werden. Die Entkernung der Erythroblasten wird nach allgemeiner Ansicht (C r o s b y 1959) von der Milz auf humoralem Wege gesteuert.

Ob alle Erythrocyten ein Retikuloocytenstadium durchlaufen, wie dies allgemein angenommen wird, wird von verschiedener Seite bestritten (Literatur siehe N i n n i 1949).

Sicher reift ein Teil der Erythrocyten im Knochenmark aus, ohne als Reticuloocyten ins Blut zu gelangen.

Über die Länge der Generationszeiten gehen die Angaben ebenfalls auseinander. Nach W e i c k e r sind die Generationszeiten der einzelnen Erythroblastenklassen gleich lang, nämlich 24 Stunden.

Neuere Untersuchungen von F l i e d n e r , C r o n k i t e und B o n d 1959 mit tritiummarkiertem Thymidin ergaben jedoch nur Generationszeiten von 15 - 18 Stunden. Diese etwas kürzere Generationszeit stimmt auch gut mit der aus dem Mitoseindex errechneten überein.

Auch die Lebensdauer, bzw. Reifungszeit der Retikuloocyten wird verschieden beurteilt. Nach H e i l m e y e r beträgt diese 1 - 2 Tage, nach R i d d l e 2 - 4 Tage, nach N i n n i 4 - 6 Tage und nach W e i c k e r mindestens 5 Tage.

Die Tatsache, daß das Volumen des Retikulocyten etwa 2,5 - 3 mal so groß wie das des Erythrocyten ist, läßt W e i c k e r an eine einmalige Retikulocytenteilung denken.

Das von W e i c k e r aufgestellte quantitative Gleichgewicht der Erythropoese wurde durch viele Untersuchungen indirekt, aber auch direkt bestätigt. Sein Wert liegt nicht nur auf theoretischem Gebiet. Auch im klinischen Bereich hat es sich bei der Deutung der Morphogenese der Anämien bewährt.

Nach W e i c k e r läßt sich das quantitative Gleichgewicht der Erythropoese dreifach gliedern:

In einem inneren Kreislauf von ca. 24 Stunden Dauer regeneriert sich unentwegt die Proerythroblasten- Kern- und Plasmamasse.

In einem mittleren 4-tägigen Kreislauf durchläuft die Erythroblasten-Kernmasse, ohne ihren quantitativen Bestand zu verändern, die 3 succedanen Reifeteilungen und erfährt die Verselbständigung der Plasmamasse.

Der dritte Kreislauf ist der der Erythroblastenplasma-Retikulocyten-Erythrocyten-Masse mit einer Dauer von 120 - 130 Tagen.

Der 4-tägigen plasmatischen Reifung (Hämoglobinisierung) folgt eine Retikulocytenphase von unbestimmter Dauer (s.o.) und eine etwa 120 Tage umfassende Lebenszeit der Erythrocyten.

Der Kreislauf schließt sich mit der Altershämolyse der Erythrocyten, dem Bilirubinkörper- und Eisenstoffwechsel, der Hämoglobinsynthese und der Re-Hämoglobinisierung der Erythroblastenplasmamasse (Weicker 1954).

Viel älter als die Frage nach den quantitativen Gesetzmäßigkeiten der Erythropoese ist die Frage nach dem Regulationsmechanismus der Erythropoese.

Es war bereits im vorigen Jahrhundert bekannt, daß Sauerstoffmangel eine erhöhte Erythrocytenzahl im peripheren Blut bedingt.

M i e s c h e r stellte daher 1893 die Hypothese auf, daß

Hypoxie oder Anoxie des Knochenmarkes der einzige Stimulus der Erythropoese sei.

1906 postulierten C a r n o t und D e f l a n d r e erstmal die Existenz eines humoralen, erythropoetischen Faktors. Die Autoren fanden nämlich, daß das Plasma, durch Aderlaß anämisch gemachter Kaninchen, nach Injektion bei normalen Tieren eine Erhöhung der Erythrocytenzahl hervorrief. M ü l l e r konnte 1912 nachweisen, daß auch eine Senkung des Luftdruckes diese Wirkung hatte.

Da jedoch keiner der Nachuntersucher diese Ergebnisse auch nur annähernd bestätigen konnte, wurde diese Theorie der humoralen Regulation wieder verlassen.

1928 beschrieb R o s e n o w , nach Stichverletzung des Striatums und der subthalamischen Gegend, eine neutrophile Leukocytose, die weitgehend unabhängig vom sog. Stichfieber war. Daraus wurde nun auf eine sympathische Regulation der Knochenmarksfunktion geschlossen.

In den Jahren 1927 - 1930 konnten H o f f und Mitarb. nachweisen, daß nervale Regulationen über das ZNS, humorale Wirkstoffe, aber auch das Säure-Basen-Gleichgewicht des Blutes für dessen Zusammensetzung und für die Funktion des Knochenmarkes maßgebend sind. Durch experimentelle Untersuchungen konnte H o f f zeigen, daß die Vermehrung der myeloischen Leukocyten im Blut durch zentralnervösen Reiz über den Sympathikus zustande kommt, während eine Verminderung eine parasympathische Reaktion ist.

Diese Untersuchungen wurden mehrfach bestätigt, jedoch standen Untersuchungen von M o r i k a w a und O k i n a t a im Widerspruch zu seinen Befunden. Diese Untersucher fanden nach Sympathikusausschaltung eine gesteigerte Zellmarkbildung, nach Parasympathikusausschaltung eine gesteigerte Fettmarkbildung.

Eine ähnliche Wirkung zeigte das Veg. System auch auf die Erythrocytenkonzentration im Blut. Eine veg. Gesamtumschaltung, wie dies bei einer Notfallreaktion der Fall ist, führt zu einer Erythrocytenausschwemmung in die Blutbahn. Es kommt zu einer Retikuloctyose.

Man erkannte jedoch sehr bald, daß das Veg. Nervensystem keine direkte erythropoetische Wirkung zu entfalten vermag, sondern daß von ihm alle Knochenmarkssysteme beeinflußt werden.

Neuere Untersuchungen über die zentralnervöse Regulation von Blut und Knochenmark stammen von B e e r 1942 und von K o m i j a 1956. B e e r zeigte im Parabioseversuch, daß die starke Retikuloeytose, die durch eine Hirnventrikel - Lufteinblasung hervorgerufen wird, stofflich bedingt ist.

Elektrische rhythmische Reizung der veg. Nervenstämmе des Bauchraumes verursacht ähnliche Retikuloeytenbewegungen, (L i n k e 1954), doch wird damit nicht der Erythropoese-regler direkt getroffen, da sympathektomierte Hunde auf Anoxie mit einer normalen Erythropoeseesteigerung reagieren (G r a n t und R o o t 1953).

Nach Ansicht von K o m i j a unterteilt man die nervöse Beeinflussung des Knochenmarkes in zwei Wege:

a) Die direkte Innervation, wobei Fasern in den zentralen veg. Leitungsbahnen des Rückenmarks verlaufen und als sympathische oder parasympathische blutregulierende Fasern austreten.

b) Eine nervös-humorale Innervation des Knochenmarkes. Der nervöse Anteil besteht aus Fasern, die mit dem Splanchnicus und Vagus in die Baueingeweide ziehen. Hier werden offenbar arteigene Wirkstoffe frei, die das Knochenmark direkt beeinflussen.

1950 wies R u h e n s t r o t h - B a u e r nach, daß der Erythropoesereglerkreis auch nach Ausschaltung des Gehirns funktioniert, da Kaninchen mit einem hohen Halsmarkquerschnitt wie normale Tiere auf einen Aderlaß reagieren. Diese und ähnliche Untersuchungen ließen die schon 1906 postulierte stoffliche Regulation der Erythropoese durch ein "Erythropoetin", wie dieser Faktor seit B o n s d o r f f 1948 genannt wird, wieder in den Vordergrund rücken.

Unabhängig und gleichzeitig von R e i s m a n n und R u h e n s t r o t h - B a u e r 1950 durchgeführte Para-

bioassays ergaben den endgültigen Beweis der stofflichen, d. h. humoralen Regulation der Erythropoese.

Ein wesentlicher Teil der in neuerer Zeit gewonnenen Erkenntnisse über das Erythropoetin ist den inzwischen ausgearbeiteten, wesentlich empfindlicheren Testmethoden zuzuschreiben. Einen Fortschritt in dieser Richtung bedeutete die Entdeckung, daß Ratten einige Zeit nach Hypophysenentfernung zur Austestung von erythropoetisch wirksamen Extrakten besonders geeignet sind (G o r d o n u. Mitarb. 1958, F r i e d u. M. 1956, M i r a n d u n d P r e n t i c e 1956).

Auch die Anwendung radioaktiven Eisens und die Einführung von "in vitro" Testmethoden durch S c h r o e d e r u. M. 1958 und N a k a o u. M. 1960 versprachen wichtige Beiträge zu liefern.

Derartige Versuchsanordnungen erbrachten den eindeutigen Beweis, daß das Erythropoetin keine Artspezifität besitzt (K i n a r d u. M. 1958), denn es war möglich, den anämischen Hund als Spendertier und die hypophysectomierte Ratte als Empfänger zu verwenden.

F r i e d e r i c i konnte 1958 mit dem Serum anämischer Meerschweinchen und Menschen eine eindeutige Zunahme der Erythroblastenzahl in der Kultur erzeugen.

Erythropoetin kommt, wie J a c o b s o n 1959 nachwies, unter Normalbedingungen im strömenden Blut nur in geringer Konzentration vor. Im Tierversuch ließ sich durch Aderlaß eine erhöhte Erythropoetinkonzentration erzeugen. Wesentlich höhere Erythropoetinspiegel erhielt man, wenn man an Stelle der Aderlaßanämie, diese mit Phenylhydrazin erzeugte. J a c o b s e n u. M. fanden, daß Tiere mit einem Leberschaden einen weit höheren Erythropoetinspiegel aufwiesen als Tiere ohne.

Ähnliche Ergebnisse erzielten P r e n t i c e u. M. 1957. Sie konnten bei normalen Tieren durch Hypoxie erst dann eine Erythropoetinanreicherung nachweisen, wenn gleichzeitig ein Leberschaden gesetzt wurde. Der Gedanke, daß die gesunde Leber eine Rolle bei der Inaktivierung des Erythropoetins spielt, war naheliegend.

H o d g s o n fand bereits 1954, daß das erythropoetische Prinzip auch im Harn nachgewiesen werden kann. G r a n t konnte 1955 zeigen, daß das Erythropoetin auch in die Milch laktierender Mäuse gelangt. Diese Befunde deuteten bereits die Wasserlöslichkeit des Erythropoetins an.

Einige Hinweise auf den Wirkungsmechanismus des Erythropoetins im Knochenmark gaben die Versuche von A l p e n u.M. 1959. Die Autoren testeten Harn mit hoher erythropoetischer Aktivität in der Knochenmarkskultur aus und konnten dabei keine Beeinflussung der DNS - Syntheserate, des Zellzyklus und der Hämoglobinsyntheserate feststellen. Der Widerspruch mit den Befunden F r i e d e r i c i s 1958 ließ sich unter der Annahme aufheben, daß zwei verschiedene Erythropoetinsysteme mit verschiedener Wirkung existieren. Die Untersuchungen der letzten Jahre haben diese Vermutung zum Teil bestätigt.

Natürlich wurde bei allen Versuchen die Frage nach dem Bildungsort des Erythropoetins nicht vergessen. Verschiedene Organe wurden als Bildungsort betrachtet. R u h e n - s t r o t h - B a u e r und M a i e r 1952 schlossen auf die Milz, G l e y 1954 auf den Thymus, da der übliche Retikulozytenanstieg auf Phenylhydrazinvergiftung nach Splen- und Thymektomie bei Ratten ausblieb. O s n e s glaubte die Leber als Bildungsstätte des Erythropoetins ansprechen zu können.

Zahlreiche Arbeiten befaßten sich mit der Wirkung des ACTH auf die Erythropoese. Man fand bei genügend langer ACTH - applikation einen signifikanten Anstieg des Hämoglobins und der Erythrocytenzahl (W h i t e und D o u g h e r t y). Diese Befunde wurden von zahlreichen Untersuchern bestätigt, so von E v a n s u. Mitarbeitern. Jedoch wurden E v a n s u. M. durch die von C r a f t s und M e i n e k e geäußerte Kritik an der Deutung ihrer Befunde zu einer Überprüfung ihrer Ergebnisse veranlaßt. Dabei ergab sich, daß ACTH nur dann erythropoetisch aktiv ist, wenn die Nebennierenrinde intakt ist. Gegen einen Einfluß der Hypophyse sprachen auch die Untersuchungen von R u h e n s t r o t h - B a u e r,

1954, da auch die hypophysektomierte Ratte noch zu einer Steigerung der Erythropoese fähig ist. Ähnliche Ergebnisse erbrachten die Untersuchungen der übrigen glandotropen Hormone.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Hypophyse in die Steuerung der Erythropoese einzugreifen vermag, aber nur über die Stimulierung peripherer endokriner Drüsen durch Bildung glandotroper Hormone.

Es lag also nahe, die Hormone der der Hypophyse unterworfenen inkretorischen Drüsen einer näheren Analyse zu unterwerfen. Die Existenz von Wechselbeziehungen zwischen Schilddrüse und Erythropoese waren seit langem bekannt. (Eine Zusammenfassung der Arbeiten bringt R e m m e l e .) Ein direkter Einfluß der Schilddrüse konnte nicht nachgewiesen werden, eine Steigerung der Erythropoese kommt jedoch durch Förderung der Oxydationsvorgänge und Steigerung der Hämolyse zustande.

Eingehende Untersuchungen über den Einfluß der Keimdrüsen auf die Erythropoese fußen auf den Beobachtungen, daß in der Zahl der Erythrocyten beim Menschen und bei vielen Tieren ein sog. Geschlechtsunterschied besteht. Männliche Blutspender regenerieren sehr viel schneller einen Blutverlust als weibliche. Die ausgedehnten Untersuchungen der männlichen und weiblichen Geschlechtshormone im Tierversuch und an Knochenmarkskulturen ergaben, daß Testosteron offenbar eine Stimulierung, die Oestrogene hingegen eine Hemmung der Erythropoese herbeiführen. Diese Tatsache wurde schon frühzeitig durch Blutuntersuchungen kastrierter Tiere, zuletzt von F e r r a r i 1930 festgestellt und in zahlreichen Arbeiten von A r v y bestätigt und erweitert.

Neue Hinweise auf die Produktionsstätte erhielt man von klinischer Seite. In einer ganzen Reihe von Fällen, bei denen eine sec. Polycythämie vorlag, z. B. bei Nierentumoren und Hydronephrosen, wurde eine erhöhte erythropoetische Aktivität des Plasmas festgestellt, die nach Entfernung der erkrankten Niere verschwand. S t o h l m a n n u. Mitarb. konnten 1954 an Patienten mit segmentaler Hypoxie, bei denen Kopf und oberer Thorax normal mit O_2 versorgt waren, zeigen, daß

das als Antwort auf eine Hypoxie gebildete Erythropoetin aus einem der schlechter versorgten Gewebe unterhalb des Diaphragmas stammen mußte.

Es ist das große Verdienst von J a c o b s o n u. Mitarb. das Problem von einer neuen Seite beleuchtet zu haben. Diese Autoren exstirpierten 1957 bei Ratten systematisch die Hypophyse, Schilddrüse, Nebenniere, Keimdrüsen, Milz, 90 % der Leber, Pancreas, Magen oder Darm und erhielten auf jeden Reiz in Form eines Aderlasses eine normale Steigerung der Erythropoese. Wurden jedoch den Ratten und Kaninchen beide Nieren entfernt, so blieb eine Steigerung der Erythropoese aus. Einseitig nephrektomierte Tiere zeigten die gleiche Reaktion wie die Kontrolltiere. Diese Befunde konnten von N a e t s 1958 am Hund verifiziert werden. M i r a n d u. Mitarb. bestätigten diese Befunde 1959 jedoch nur zum Teil. Sie fanden nämlich, daß die Erythropoesesteigerung nephrektomierter Tiere durch Hypoxie erhalten bleibt.

M i r a n d u. M. neigten deshalb zu der Ansicht, daß neben der Niere noch eine andere Produktionsstätte für erythropoetische Substanzen postuliert werden muß. O s n e s geht noch einen Schritt weiter. Aufgrund seiner Untersuchungen fordert er die Differenzierung des erythropoetischen Prinzips in zwei verschiedene Substanzen, von denen die eine, das "Juxtaglomerulin", in der Niere produziert wird, während das "Erythropoetin" außerhalb der Niere gebildet werden soll.

Die chemische Charakterisierung der erythropoetisch aktiven Stoffe konnte im Laufe der letzten Jahre von verschiedenen Forschergruppen mit im wesentlichen übereinstimmenden Ergebnissen vorangetrieben werden. Es wird heute zwischen einem wasserlöslichen und einem lipoidlöslichen Prinzip unterschieden. Während über die Natur der wasserlöslichen Plasma- und Harnfaktoren weitgehende Übereinstimmung herrscht, gehen die Ansichten über die Existenz und Eigenschaften des lipoidlöslichen Prinzips auseinander.

Das wasserlösliche Prinzip erwies sich übereinstimmend als resistent gegenüber kurzdauernder Hitzeeinwirkung. Weder die aus dem Plasma gewonnenen, noch die aus dem Harn gewonnenen Faktoren sind dialysierbar.

R a m b a c h u. M. fanden bei wasserlöslichen Faktoren sämtliche Reaktionen auf Mucoproteide positiv, insbesondere den Sialinsäuretest. Einstündiges Erhitzen auf 100 °C bei pH 2 zerstört das erythropoetische Prinzip.

Weniger exakt und umfangreich sind die Kenntnisse über den lipoidlöslichen Faktor. G l e y und D e l l o r berichteten 1955 erstmals über die Darstellung eines fettlöslichen "Hämo-poetins" durch Alkohol- und Ätherextraktion von Plasma, das sich als ein Steroid mit einer Hydroxy- und drei Ketogruppen erwies. Diese Substanz regte die Proliferation von Erythroblasten an. L i n m a n u. M. konnten 1958 und 1959 in verschiedenen Untersuchungen ebenfalls einen ätherlöslichen Faktor beschreiben, der eine Retikuloctose und Erythrocytenvermehrung im strömenden Blut bewirken sollte, aber keinen Anstieg des Hämoglobins. Chemisch wurde diese Substanz mit dem Bathylalkohol identifiziert. L i n m a n u. M. lehnen nun die Existenz des wasserlöslichen Faktors keineswegs ab, sondern differenzieren beide Faktoren in ihrer Wirkung. Der lipoidlösliche soll die Teilung der Erythroblasten stimulieren, während der wasserlösliche Faktor für die Anregung der Hämoglobinsynthese verantwortlich sein soll.

Mit diesen Befunden rückte zunächst das Hypophysen- Nebennierenrindensystem als Bildungsort dieses Faktors ins Blickfeld.

1957 hatte v a n D y k e u. M. erneut einen erythropoetischen Faktor der Hypophyse postuliert. S i m p s o n , E v a n s und R o s e n b e r g kamen jedoch 1959 zu dem Schluß, daß die Bildung des beschriebenen Erythropoetins von der hormonellen Beeinflussung der Erythropoese durch die Hypophyse getrennt werden muß. 1959 betonte auch F i s h e r die Rolle des Hypophysen-Nebennierensystems für das Zustandekommen einer kobalt-induzierten Polycythämie bei Hunden. Die von F i s h e r erhobenen Befunde sind am besten mit einer synergistischen Wirkung der Nebennierenrinden-Hormone und des Erythropoetins zu erklären.

Für eine Beteiligung der Nebenniere an der Regulation der Erythropoese gaben die Anämie beim Morbus Addison und die Polyglobulie bei Morbus Cushing die ersten Anhaltspunkte.

Während im Tierexperiment das Fehlen der Nebennieren zu einer Anämie führt, konnte von G o l d und M i c h a e l 1959 bei einem Säugling mit kongenitaler Hyperplasie der Nebennieren das Auftreten einer Polyglobulie beobachtet werden. Die Wirkung der Nebennieren auf die Erythropoese geht von den Glucocorticoiden aus, während nach den bisherigen Ergebnissen ein Einfluß der Mineralocorticoide und des Adrenalins auf die Erythropoese unwahrscheinlich ist. F i s h e r 1958 fand eine statistisch signifikante Vermehrung der Erythrocytenzahl und des Gesamt-Erythrocytenvolumens unter dem Einfluß einer mehrwöchigen Behandlung von Ratten mit täglichen Injektionen von 5 bzw. 10 mg Corticosteron oder 0,5 bzw. 2 mg Hydrocortison. Die erythropoetische Wirkung des Hydrocortisons wurde durch E g l i und K e l l e r bestätigt, die außerdem eine sehr starke Erhöhung der Retikuloocytenzahl nach Injektion kleinster Dosen von 11-Dehydrocorticosteron (Compound A.) beobachteten (1 - 10 Gamma/100gr). Demgegenüber sahen G o r d o n u. M. 1951 nach Gabe von Compound A keine Besserung der durch die Adrenalektomie hervorgerufenen Anämie der Ratte. Cortison verhindert die Anämie-Entstehung nach der Adrenalektomie allein (G o r d o n u. M.) bzw. in Kombination mit STH und Thyroxin (C r a f t s und M e i n e k e , 1958).

Auch beim Menschen erzeugt Cortison einen signifikanten Anstieg der Retikuloocytenzahl und eine Besserung der Hämoglobin- und Erythrocytenwerte anämischer Patienten (F i n c h u. M., 1951). L i n s k und M u r r a y (1961) berichteten über die erfolgreiche Behandlung einer aplastischen Anämie mit Prednison. Demgegenüber ist es nicht möglich, die nach der Hypophysektomie auftretende Anämie mit Desoxycorticosteronacetat dauerhaft zu beheben (Q u e r i d o und O v e r - b e e k , 1938) oder die Knochenmarkshypoplasie dieser Tiere merklich zu beeinflussen (V o l l m e r , G o r d o n und C h a r i p p e r , 1942; G o r d o n , P i l l i e r o und L a n d a u , 1951). Nach neueren Untersuchungen F i s h e r s (1962) haben die Nebennierenrindensteroidoide, die sicher nicht identisch mit dem Erythropoetin sind, vielleicht eine permissive Wirkung gegenüber dem Erythropoetin. F i s h e r

beobachtete nach Injektion von gereinigtem Schaf-Erythropoetin bei adrenaletomierten Ratten einen geringeren Anstieg der Fe-Incorporation in die Erythrocyten als bei gesunden Ratten. Er hält es für möglich, daß für die optimale Stimulierung der Erythropoese durch das Erythropoetin eine bestimmte Menge an Nebennierensteroiden erforderlich ist.

1960 fand B o r c h e r s nach Zusatz von 11-Dehydrocorticosteron zu Knochenmarkskulturen (plasma-clot) eine ausgesprochene Stimulierung der Reifeteilungen und der Ausreifung der Erythroblasten gegenüber den Kontrollen. Eine definitive Aussage über eine Zellvermehrung war jedoch aus methodischen Gründen nicht möglich, obwohl die Befunde dies wahrscheinlich machten. B o r c h e r s fand weiter, daß die Mitoseindices zunächst anstiegen, und daß in den Kulturen mit Steroidzusatz eine erheblich höhere Zahl von freien Erythroblastenkernen zu finden war als in den Kontrollen. Darüber hinaus machten die Zellen in diesen Kulturen einen vergleichsweise "vitaleren" Eindruck als die der Kontrollen. B o r c h e r s schließt aus diesen Befunden, daß 11-Dehydrocorticosteron außer der oben erwähnten Wirkung, die nekrobiotischen Abbauvorgänge der reifen Elemente verzögert.

Zusammenfassend wäre über die Wirkung der NNR-Hormone auf die Erythropoese folgendes zu sagen:

Die Glucocorticoide der Nebennierenrinde steigern die Erythropoese. Über den Mechanismus dieser Steigerung ist noch nichts Sicheres bekannt. Am ehesten ist an eine direkte Stimulierung des Knochenmarkes zu denken (L a b h a r t, 1957). Der günstige Einfluß der Corticosteroide auf bestimmte Anämieformen beruht teils auf ihrer direkten Knochenmarkwirkung, teils auf indirekten, sekundären Nebenwirkungen, wie z. B. Beeinflussung der Hämolyse oder des Grundleidens (G a r d n e r, 1962).

Aufbauend auf den Ergebnissen von B o r c h e r s glauben wir mit unseren Untersuchungen an der Knochenmarkskultur einen Beitrag zum Problem der erythropoetischen Wirkung von 11-Dehydrocorticosteron liefern zu können. Bei unseren

Untersuchungen hielten wir uns im wesentlichen an die Angaben von B e r m a n und P o w s n e r , die das Verfahren der Suspensionskultur im "roller-tube" 1959 beschrieben. Wir hoffen durch dieses Verfahren vor allem quantitative Aussagen über Zellvermehrung machen zu können, die bei der Kulturtechnik im "plasma-clot" nicht möglich sind.

T e c h n i k

In 23 Fällen klinisch indizierter Knochenmarksuntersuchungen wurden mit dem durch Sternalpunktion gewonnenen Material Serien von Suspensionskulturen angelegt. 11 Serien wurden dazu verwendet, die von B e r m a n und P o w s n e r beschriebene Technik in eine unseren Verhältnissen angemessene Form zu bringen und gleichzeitig die für unsere Untersuchungen günstigste Zusammensetzung des Nährmediums zu finden. Von den 12, für unsere Untersuchungen in Frage kommenden Kulturserien mußten weitere 2 ausgeschlossen werden, da sie die von uns festgelegten Kriterien (untere Grenze der Zellzahlen in den Kulturen = 10 000 Zellen/cmm) nicht erfüllten. Die restlichen 10 Kulturserien wurden bei der Auswertung berücksichtigt. Die von uns angewendete Technik wurde in allen Kulturserien streng eingehalten, um damit in allen Versuchen die gleiche Ausgangssituation zu schaffen und die das System beeinflussenden Faktoren konstant zu halten.

M a t e r i a l

Für unsere Versuche verwendeten wir 1 ml und 2 ml Meßpipetten und außerdem Kulturpipetten (20 cm lang, Ø 0,5 cm) mit den dazu passenden Gummikappen.

Für die Verarbeitung des Sternalmarkes wurden graduierte 15 ml fassende Zentrifugenröhrchen verwendet.

Die Suspensionen wurden in Kulturröhrchen mit den Ausmaßen 10 1,3 cm incubiert. Diese Röhrchen wurden mit Korkstopfen verschlossen.

Die weiteren Geräte bestanden aus Pinzetten, Glasstäben. Eine Raumentkeimung wurde nicht durchgeführt. Der Arbeitsplatz befand sich innerhalb eines hämatologischen Labors, und war nur durch Plastikfolien abgetrennt. Der Arbeitsplatz wurde 24 Stunden vor Explantation und kurz vorher mit 96%-igem Alkohol gereinigt und außerdem abgeflammt. Alle Arbeiten wurden mit Gesichtsmaske ausgeführt. Auf

sterile Kleidung wurde verzichtet.

Der Roller, der 14,5 Umdr./Stunde machte, befand sich in einem Thermostaten, der genau auf 37°C einreguliert war.

R e i n i g u n g

Die exakte Ausführung des Reinigungsvorganges ist ein wesentlicher Faktor jeder Kulturmethode und kann das Gelingen entscheidend beeinflussen.

Wir hielten uns an folgendes Schema:

Sämtliche Glasgeräte wurden für 24 Std. in konz. Schwefelsäure eingelegt. Die siliconisierten Kulturröhrchen wurden vorher mit gesättigter methyllalkoholischer Kalilauge behandelt, um den Siliconüberzug zu entfernen.

Hierauf wurden sämtliche Glasgeräte 24 Std. in fließendem Leitungswasser gewässert. Anschließend wurden die Glasgeräte in Perwoll-Lösung ausgekocht und nochmals 24 Std. in Leitungswasser gelegt. Wenn sich nach dem Auskochen mit Perwoll-Lösung an den Glasgeräten Niederschläge gebildet hatten, so wurden diese durch Einlegen der Geräte in mit wenig Schwefelsäure angesäuertes Wasser entfernt. An die 24-stündige Wässerung in Leitungswasser schloß sich eine 24-stündige in destilliertem Wasser an. Nach Trocknung der Glasgeräte wurden die Pipetten mit einem Wattebausch verschlossen, die Zentrifugengläser und Kulturröhrchen und auch die übrigen Gerätschaften wurden in Aluminiumfolie verpackt. Die Reinigung der Korkstopfen und Gummikappen beschränkte sich auf ein kurzes Auskochen in dest. Wasser. Korkstopfen und Gummikappen wurden autoclaviert, alle übrigen Geräte heißluftsterilisiert.

Die Siliconisierung der Kulturröhrchen wurde im Anschluß an den Reinigungsvorgang durchgeführt. Dazu verwendeten wir Siliconöl AK 350 und hielten uns an die Vorschriften der W a c k e r - C h e m i e München.

Im anschluß an die Siliconisierung wurden die Kulturröhrchen nochmals 24 Std. in destilliertem Wasser gereinigt.

Ablauf der Explantation

Die Sternalpunktion wurde mit nicht vorbehandelten Nadeln und Spritzen durchgeführt. Die durch einmalige, kräftige Aspiration gewonnene Blut-Mark-Suspension (ungef. 3 - 4 ml) wurde mit der gleichen Menge Hanksscher Lösung gemischt, die mit V e t r e n versetzt war (Verdünnung 1 : 10).

Dieses Gemisch wurde hierauf bei 1500 U/min 10 Minuten lang zentrifugiert. Die oberen Schichten des Sedimentes wurden mit einer Kulturpipette abgesogen und in 10 ml Nährmedium suspendiert. Nach erneuter Suspendierung wurde nochmals zentrifugiert und obiger Vorgang wiederholt.

(Das Nährmedium setzte sich aus Hanksscher Lösung mit 0,5 gr % Lactalbuminhydrolysat + 10 mg % Penicillin und Streptomycin zusammen.)

Die Nährmedium-Zellsuspension wurde nun ebenfalls zentrifugiert und der Überstand mit einer Kulturpipette bis auf 3,5 ml abgesogen. Dabei wurde darauf geachtet, daß etwaige Fetttropfen und Markbröckel mit entfernt wurden.

Das Sediment wurde in den verbliebenen 3,5 ml Nährmedium gut suspendiert und mit einer 1 ml Meßpipette gleichmäßig auf zwei neue Röhrchen verteilt. Zu diesen Zellsuspensionen wurden noch je 0,75 ml Hankssche Lösung (ohne Zusätze) und 0,75 ml Serum des Probanden gefügt. Diese Ansätze wurden auf je 6 Kulturröhrchen zu je 0,4 ml verteilt. Nachdem diese mit Korkstopfen verschlossen waren, wurden sie incubiert. Sämtliche Arbeiten wurden unter den Kautelen sterilen Arbeitens durchgeführt. Darüberhinaus wurden alle Gläser bei längerem Stehen durch Metallkappen verschlossen.

Das Probandenserum wurde bei unseren Versuchen mindestens 2 1/2 Stunden vor Explantation gewonnen. Es wurde auf zwei Kulturröhrchen verteilt, deren eines die zu testende Substanz enthielt. Beide Röhrchen wurden bis zur weiteren Verwendung im Brutschrank incubiert. Vor Verwendung wurden beide kurz zentrifugiert und nur das überstehende Serum verwendet.

Z ä h l u n g

Zellzählungen wurden sofort nach Incubation, nach 24 und nach 48 Stunden durchgeführt. Zur Zählung verwendeten wir je nach Zellgehalt Leucopipetten oder Erythrocytenpipetten und Zählkammern nach N e u b a u e r .

Zur Zählung wurden zu den genannten Zeiten jeweils wahllos 2 Kulturröhrchen jeder Reihe dem Brutschrank entnommen und je Röhrchen zunächst 8 große Quadrate ausgezählt. Hierauf wurden die Inhalte je zweier entsprechender Röhrchen vereinigt und davon erneut je 8 große Quadrate ausgezählt.

Vom Rest des Inhaltes wurden nach leichter Eindickung je zwei Ausstriche angefertigt und gefärbt.

D i f f e r e n z i e r u n g

Die Differenzierung erfolgte blind, d. h. ohne Kenntnis der Zugehörigkeit des Präparates, um der Auswertung jede Subjektivität zu nehmen. (Die Differenzierung wurde unter Anleitung und Überwachung des Herrn O.A. Priv. Doz. Dr. B o r c h e r s durchgeführt.) Pro Ausstrich wurden zunächst 250 Zellen differenziert, anschließend nochmals pro Ausstrich je 100 Erythroblasten.

Gleichzeitig mit der Differenzierung wurde das Zellbild nach seiner Erhaltung bewertet. Als Kriterien verwendeten wir die Bildung von Stechapfelformen bei Erythrocyten, Kern- und Plasmastruktur bei Granulocyten.

E r g e b n i s s e

Bei der Auswertung unserer Ergebnisse wurden 10 Explantationsserien berücksichtigt, die den von uns gestellten Anforderungen entsprachen (siehe Technik).

Das Knochenmark dieser Kulturen stammte durchwegs von Patienten, bei denen eine Knochenmarksuntersuchung klinisch indiziert war. Die Differenzierung der Punktate ergab jedoch in der überwiegenden Zahl normales Knochenmark. Bei den wenigen pathologisch veränderten Punktaten handelte es sich aber durchwegs um Knochenmark, dessen Zustand eine Verwendung in unserem Sinne ohne Bedenken zuließ. Leukämisch verändertes Knochenmark kam nicht zur Anwendung.

Bei der Auswertung der Versuche mußte Versuch XX ausgeschlossen werden, da diese Kulturserie unter dem Einfluß uns unbekannter Faktoren völlig aus dem Rahmen der übrigen Versuche fiel.

Das Verhalten des menschlichen Knochenmarkes in der Kultur wird einerseits von den physiologischen Prozessen wie Proliferation, Reifung und Zelluntergang bestimmt, andererseits durch die unphysiologischen Faktoren der Kulturmethode in vitro und des zum Teil artfremden Mediums. Die Kultur im "plasma-clot" hat den Vorteil, daß innerhalb des einzelnen Markbröckels nahezu "in vivo"-Verhältnisse herrschen, sie hat jedoch den Nachteil, daß die Einhaltung konstanter Verhältnisse, wie z.B. die Zusammensetzung des Nährmediums bei ihr nahezu unmöglich ist. Sie leidet außerdem darunter, daß eine Zellzählung nicht möglich ist, d.h. sie läßt nur qualitative Aussagen zu.

Diese Nachteile umgeht die Suspensionskultur im "roller-tube". Gegen diese Technik läßt sich einwenden, daß hier keinerlei Beziehungen zu den Verhältnissen "in vivo" bestehen, doch bietet gerade diese Kulturmethode den Vorteil, alle unbekannten Faktoren, die das Verhalten der Zellen in der Kultur beeinflussen, durch Konstanthaltung zu eliminieren und dadurch eine Vergleichsmöglichkeit zwischen unter gleichen Bedingungen durchgeführten Versuchen zu schaffen. Im Gegensatz zu den mannigfaltigen re-

gulierenden Einflüssen auf das blutbildende Gewebe "in vivo" haben wir es "in vitro" mit einer einzigen Korrelation zu tun, der zwischen lebenden Zellen und Nährboden. Grundsätzlich ist zwischen protektiven Medien und wachstumsfördernden Substanzen zu unterscheiden.

Zur Beurteilung der protektiven Einflüsse auf die Zellen kann als Maßstab der Erhaltungszustand der Kulturen herangezogen werden. Einen feinen Indikator für den osmotischen Druck in der Kultur stellt die Bildung von Stechapfelformen dar. In jeder Kultur findet ein mehr oder weniger großer Zelluntergang statt. Die dabei freiwerdenden osmotisch und hämolytisch wirksamen Substanzen können nun nicht eliminiert werden. Die Folge davon ist ein Anstieg des osmotischen Druckes mit zunehmender Kulturdauer. Die Bildung von Stechapfelformen ist also in erster Linie eine Resultante der Größe des Zellunterganges. Ein anderes Kriterium für die protektiven Einflüsse des Nährmediums stellte der Erhaltungszustand der Granulocyten dar. Es war nun überraschenderweise festzustellen, daß der Erhaltungszustand der Zellen in den Kulturen mit Steroidzusatz weit besser war, als in den Kontrollen. Der Zusatz von 11-Dehydrocorticosteron scheint also die in der Kultur üblichen Abbauvorgänge, den nekrobiotischen Verfall der reifen Elemente zu verzögern.

Eine Beurteilung der wachstumsfördernden Einflüsse auf die Kultur ist weitaus schwieriger. Das Verhalten der absoluten Zellwachstumsrate zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen Kulturen mit Steroidzusatz und Kontrollen. In den meisten Explantationsserien fallen die absoluten Zellzahlen mit zunehmender Kulturdauer kontinuierlich ab, in einigen steigt die absolute Zellzahl zunächst bis 24 Std. leicht an, um dann nach 48 Std. wieder den Ausgangswert zu erreichen.

Eine bessere Beurteilung der Proliferationsfähigkeit der Zellen in der Kultur ist in der Bestimmung des Mitoseindex gegeben. Leider mißlang uns die Bestimmung des Mitoseindex mit Hilfe von Colchicin in unseren Kulturen. Der Grund für diesen Mißerfolg liegt wohl darin, daß die in der Metaphase gestoppten, sich teilenden Zellen den hohen mechanischen Einwirkungen der Kulturmethode nicht gewachsen sind und

vorzeitig zugrunde gehen. Wir konnten jedoch in unseren Kulturen noch nach 48 Std. Mitosefiguren feststellen, wobei aber in der Zahl der Mitosen zwischen Kulturen mit Steroidzusatz und Kontrollen kein signifikanter Unterschied festzustellen war. Die Teilungsfähigkeit der explantierten Zellen steht somit außer Frage.

Eindeutig ist dagegen der Einfluß des 11-Dehydrocorticosterons auf die Relation Granulopoese: Erythropoese mit zunehmender Kulturdauer. Zusammenfassend läßt sich das Verhalten der Relation in 3 Gruppen einteilen:

1. Der Anteil der Erythropoese nimmt in den Kulturen mit der Kulturdauer zu, wobei jedoch der Anstieg in den Kulturen mit Steroidzusatz größer ist (XII).
2. Der Anteil der Erythropoese nimmt in den Kulturen mit 11-Dehydrocorticosteron zu, in den Kontrollen dagegen ab (XV, XXII).
3. Der Anteil der Erythropoese nimmt in beiden Reihen kontinuierlich ab, wobei jedoch die Abnahme in den Kontrollen wiederum zum Teil erheblich stärker ist (XIII, XVI, IXX, XX, XXIII).

Ein Nachteil unserer Kulturmethode ist, daß es nicht möglich war, die Relationen der einzelnen Erythroblastenklassen in den Ansätzen für Kulturen mit Steroid und Kontrollen zu vollkommener Übereinstimmung zu bringen. Wir versuchten diesen Fehler dadurch zu verringern, daß wir in unseren graphischen Darstellungen nicht die Absolutwerte der Erythroblasten verwendeten, sondern die relativen Absolutwerte. Es wurden also alle Werte jeder Kulturreihe auf die jeweiligen Normoblastenwerte (=100%) der 0 Std. Kulturen bezogen.

Die Erythropoese in der Kultur ist infolge der engen Verknüpfung dieses Zellsystems mit der intakten Organstruktur des Knochenmarkes noch mehr als die übrigen Systeme gestört. Während die Zellen der Granulopoese durch die Aufhebung des ursprünglichen Knochenmark-Zellverbandes, wie dies in unseren Suspensionskulturen der Fall ist, keine wesentliche Einbuße ihrer Entwicklungsfähigkeit erleiden, werden die Erythro-

blasten mit der Auflösung des Zellverbandes aus wesentlichen funktionellen Verbindungen mit dem Knochenmarkstroma herausgerissen. Da dem Erythron, d.h. der Anordnung von Erythroblasten verschiedener Reifungsstufen um eine oder mehrere lymphoide Retikulumzellen nach neueren Untersuchungen eine wesentliche Bedeutung in Bezug auf Proliferation und Evolution der Erythroblasten zukommt, ist es fraglich, ob diese Vorgänge in der Suspensionskultur noch möglich sind.

Zur Beurteilung der Proliferation in unseren Kulturen zogen wir das Verhalten der Erythroblastenabsolutwerte heran.

Wie oben bereits ausgeführt, nimmt der Anteil der Erythropoese mit zunehmender Kulturdauer in den meisten Explantationsserien ab, wobei die Abnahme in den Kontrollen wesentlich stärker ist. Das gleiche Verhalten zeigen die Erythroblastenabsolutwerte, die die Resultante aus verschiedenen Vorgängen darstellten. Einerseits kommt es bald zu einer Erschöpfung der teilungsfähigen Matrix, andererseits reifen die vorhandenen Elemente, wie dies unsere Reifungskurven eindeutig zeigen, aus und verschwinden durch Zelluntergang oder Entkernung aus dem System.

Ein signifikanter Einfluß des 11-Dehydrocorticosterons ist am Verhalten der Normoblastenwerte ersichtlich.

In sämtlichen Explantationsserien liegen die Normoblastenwerte der Kulturen mit Steroidzusatz zum Teil erheblich über den Werten der Kontrollen. Worauf dieser Unterschied beruht läßt sich aus den Reifungskurven nicht entnehmen. Es taucht hier die Frage auf, ob in den Kulturen eine Entkernung möglich ist und ob diese durch das 11-Dehydrocorticosteron beeinflusst wird. Im Hinblick auf diese Frage sind zwei Befunde interessant, die wir an unseren Kulturen erheben konnten. Wir stellten fest, daß mit zunehmender Kulturdauer der Prozentsatz an Normoblasten ohne Substantia reticulofilamentosa zunimmt, wobei zwischen Kulturen mit Compound A und Kontrollen kein wesentlicher Unterschied festzustellen war. Umgekehrt nimmt die Zahl der Retikulozyten in beiden Kulturreihen gleichmäßig ab.

Eine Zählung der freien Normoblastenkerne : intakten Normoblasten ergab, daß die Zahl der freien Kerne nach 24 Std.

in beiden Kulturreihen gleich groß war, die Zahl der freien Kerne nach 48 Std. jedoch in den Kontrollen fast doppelt so hoch war wie in den Kulturen mit Compound A.

Um die Wirkung des 11-Dehydrocorticosterons klarer hervorzuheben, glauben wir mit einer gewissen Berechtigung die 9 gleichsinnig verlaufenen Versuche in einer Sammelkurve zusammenfassen zu dürfen. Die so gewonnenen Reifungskurven zeigen eine deutliche Proliferation von polychromatischen Erythroblasten in den ersten 24 Stunden unter dem Einfluß von 11-Dehydrocorticosteron. In den folgenden 24 Stunden reifen diese Elemente zu Normoblasten aus. Der Unterschied zwischen den Normoblastenwerten nach 48 Stunden in den Kontrollen und den Kulturen mit Steroidzusatz ist wohl als signifikant für die Wirkung des 11-Dehydrocorticosterons anzusehen.

Abb. 1

Ausstrich der Kultur XXl11
mit Steroidzusatz zur Zeit
0 Stunden.

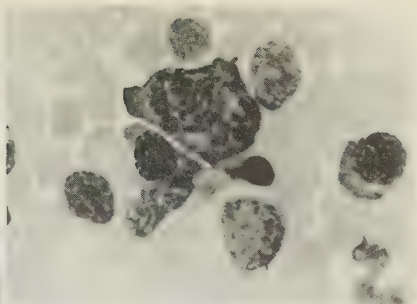
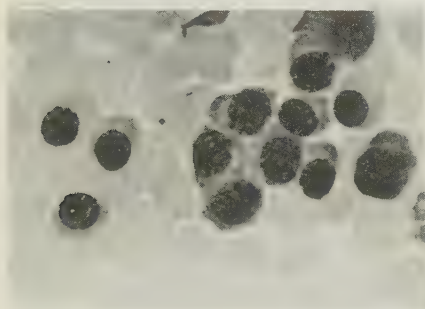


Abb. 2

Ausstrich der Kultur XXl11
mit Steroidzusatz zur Zeit
0 Stunden.

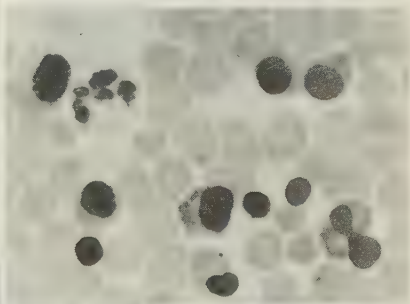


Abb. 3

Ausstrich der Kultur XXl11
mit Steroidzusatz nach
24 Stunden.

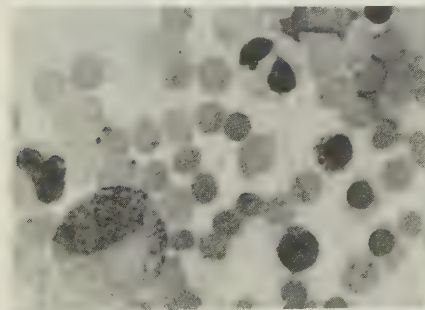


Abb. 4

Ausstrich der Kultur XXl11
mit Steroidzusatz nach
48 Stunden.

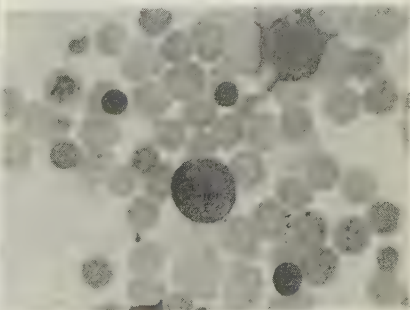


Abb. 5

Ausstrich der Kultur XXl11
mit Steroidzusatz nach
48 Stunden.

Abb. 6
Ausstrich der Kontroll-
kultur des Versuchs XX111
zur Zeit 0 Stunden.

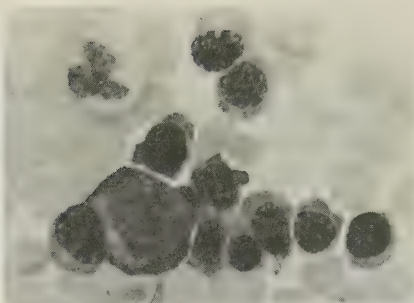
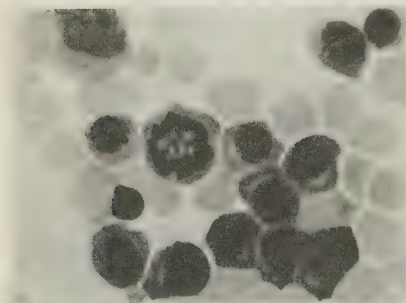


Abb. 7
Ausstrich der Kontroll-
kultur des Versuchs XX111
zur Zeit 0 Stunden.

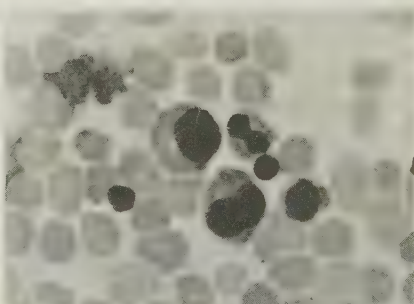


Abb. 8
Ausstrich der Kontroll-
kultur des Versuchs XX111
nach 24 Stunden.

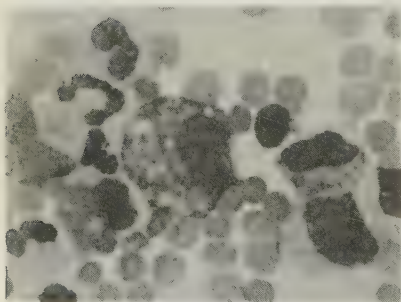


Abb. 9
Ausstrich der Kontroll-
kultur des Versuchs XX111
nach 48 Stunden.

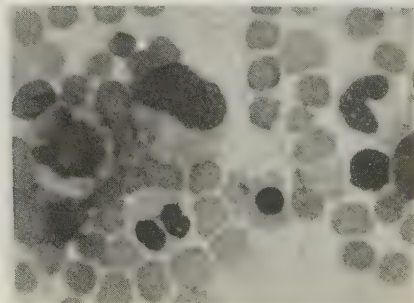


Abb. 10
Ausstrich der Kontroll-
kultur des Versuchs XX111
nach 48 Stunden.

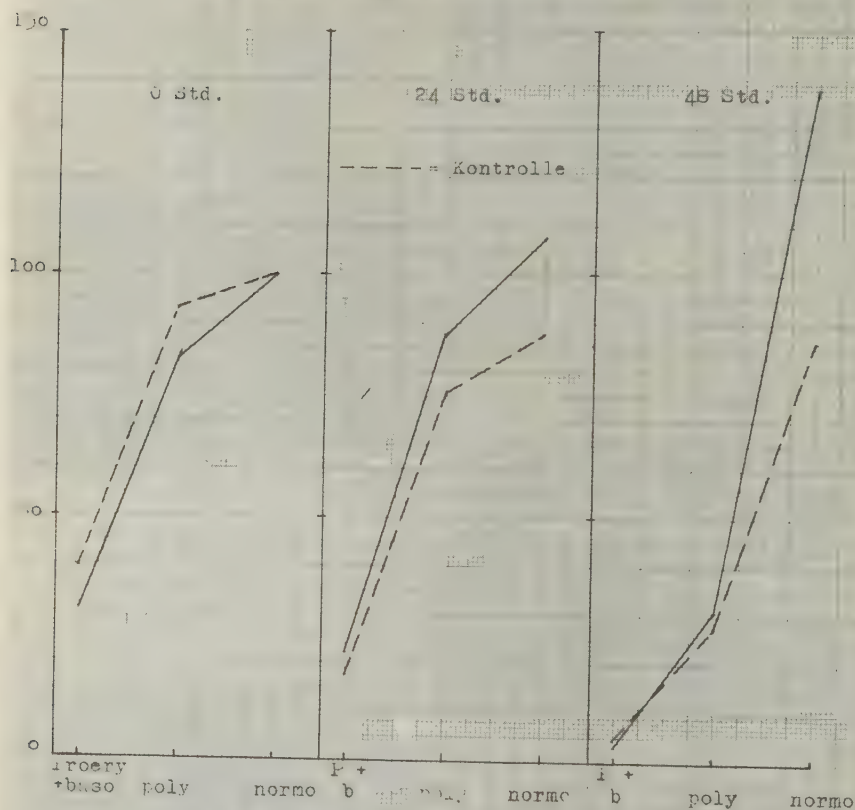
RELATIVE WERTE DER ABSOLUTEN ZELLZAHLEN

	OA	24 A	48 A	OK	24 K	48 K
XII	100,0	107,4	107,0	100,0	104,3	96,8
XIII	100,0	105,4	98,8	100,0	106,3	107,0
XV	100,0	103,0	104,5	100,0	97,5	104,3
XVI	100,0	129,7	129,0	100,0	124,5	115,2
XVII	100,0	110,8	98,7	100,0	108,8	96,2
XIX	100,0	98,7	97,6	100,0	93,8	99,5
XX	100,0	116,1	109,5	100,0	132,7	120,6
XXI	100,0	100,0	93,4	100,0	103,4	99,9
XXII	100,0	111,1	98,4	100,0	109,5	93,9
XXIII	100,0	117,3	106,2	100,0	111,3	107,5

RELATIVE WERTE DER ERYTHROBLASTENABSOLUTZAHLEN

	OA	24 A	48 A	OK	24 K	48 K
XII	100,0	154,0	151,8	100,0	178,4	149,2
XIII	100,0	77,5	47,7	100,0	74,8	41,2
XV	100,0	97,0	85,5	100,0	88,8	67,8
XVI	100,0	108,0	108,0	100,0	54,9	25,9
XVII	100,0	72,8	41,6	100,0	86,0	20,9
XIX	100,0	98,5	73,5	100,0	60,5	47,3
XX	100,0	140,0	120,0	100,0	370,0	130,0
XXI	100,0	70,0	65,0	100,0	61,5	48,7
XXII	100,0	160,0	100,8	100,0	55,1	44,8
XXIII	100,0	102,3	70,6	100,0	81,0	34,9

S A M E L I R U R V E N (ohne Versuch A) .



	0 h	24 h	48 h
froery	4,2	1,0	0,1
baso	27,6	19,2	2,7
poly	82,6	87,9	30,8
normo	100,0	107,5	138,2

OK	24 h	48 h
7,1	1,5	-
32,7	15,8	4,5
93,2	75,5	27,7
100,0	87,9	86,3

V e r s u c h : XII

Fall: K. Maria

geb.: 30. 11. 1921

Diagnose: metastasierende STRUMA maligna
mit leukämischer Reaktion

Hb: 59 %

Ery: 3,57 Mill.

MYELOGRAMME DER EXPLANTATE (DIFFERENZIERUNG VON JE 500 ZELLEN/REIHE = 100%)

	0 A	24 A	48 A
MYELOBLAST.	0,2	0,2	0,2
PROMYELO.	6,4	4,8	0,6
MYELOCYT.	10,2	3,2	4,8
JUGENDL.	6,4	2,4	4,2
STABKERN.	12,0	7,8	10,0
SEGMENT.	44,6	55,0	52,0
EOSINOPH.	0,8	0,8	1,6
LYMPHOCYT.	1,4	3,4	4,8
MONOCYT.	1,2	0,6	0,6
PROERYTHRO	0,4	-	0,4
BASO	3,6	5,4	0,8
POLY	5,2	8,8	3,6
NORMO	5,4	6,8	16,0
RETIKULOC.	-	-	-
PLASMA.	0,2	0,2	0,2
MEGA-MAST.	2,0	0,6	0,2

	0 K	24 K	48 K
-	0,2	0,2	
8,0	4,2	1,2	
8,6	6,6	4,8	
7,4	2,6	4,2	
12,6	10,0	6,4	
44,6	45,2	54,4	
2,0	1,8	1,8	
1,8	4,4	5,0	
0,6	1,0	0,6	
0,4	0,4	0,4	
2,2	4,6	1,6	
4,8	8,6	5,8	
5,8	8,8	12,4	
-	-	-	
-	-	-	
1,2	1,6	1,2	

ZELLZAHLEN EINSCHLIESSLICH FEHLERBERECHNUNG

	0 A	24 A	48 A
MITTELWERTE	92,16	99,07	98,70
DISPERSION	17,85	10,70	12,20
M	3,64	2,18	2,49
ZELLZAHL	92200	99100	98700
± FEHLER	3700	2200	2500

	0 K	24 K	48 K
99,20	103,54	96,00	
13,00	15,30	10,60	
2,65	3,12	2,16	
99200	103500	96000	
2700	3200	2200	

ERGEBNIS DER DIFFERENZIERUNG VON JE 200 ERYTHROBLASTEN/REIHE (ERYTHROPOESE = 100%)

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	2,0	-	1,0
BASO	15,0	23,5	4,5
POLY	43,5	42,5	26,5
NORMO	39,5	34,0	68,0

	0 K	24 K	48 K
2,0	1,0	1,0	
14,5	25,5	9,5	
42,0	42,0	33,0	
41,5	31,5	56,5	

PROZENTANTEILE VON GRANULOPOESE, ERYTHROPOESE, SONSTIGE.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	80,6	74,2	73,4
ERYTHROP.	14,6	21,0	20,8
SONSTIGE	4,8	4,8	5,8

	0 K	24 K	48 K
	83,2	70,6	73,0
	13,2	22,4	20,2
	3,6	7,0	6,8

ABSOLUTWERTE DER VERSCHIEDENEN SYSTEME.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	74300	73500	72200
ERYTHROP.	13500	20800	20500
SONSTIGE	4400	4800	6000

	0 K	24 K	48 K
	82600	73000	70100
	13000	23200	19400
	3600	7300	6500

ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	270	-	210
BASO	2030	4890	920
POLY	5870	8840	5430
NORMO	5330	7070	13940

	0 K	24 K	48 K
	260	230	190
	1890	5920	1850
	5460	9740	6400
	5390	7310	10960

RELATIVE ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

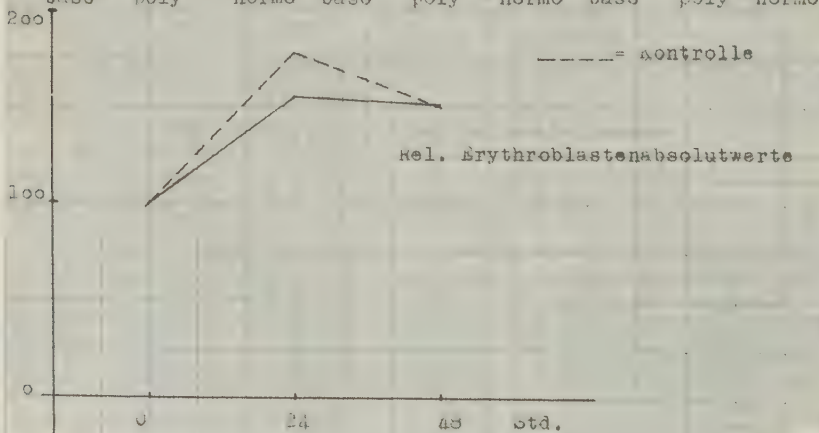
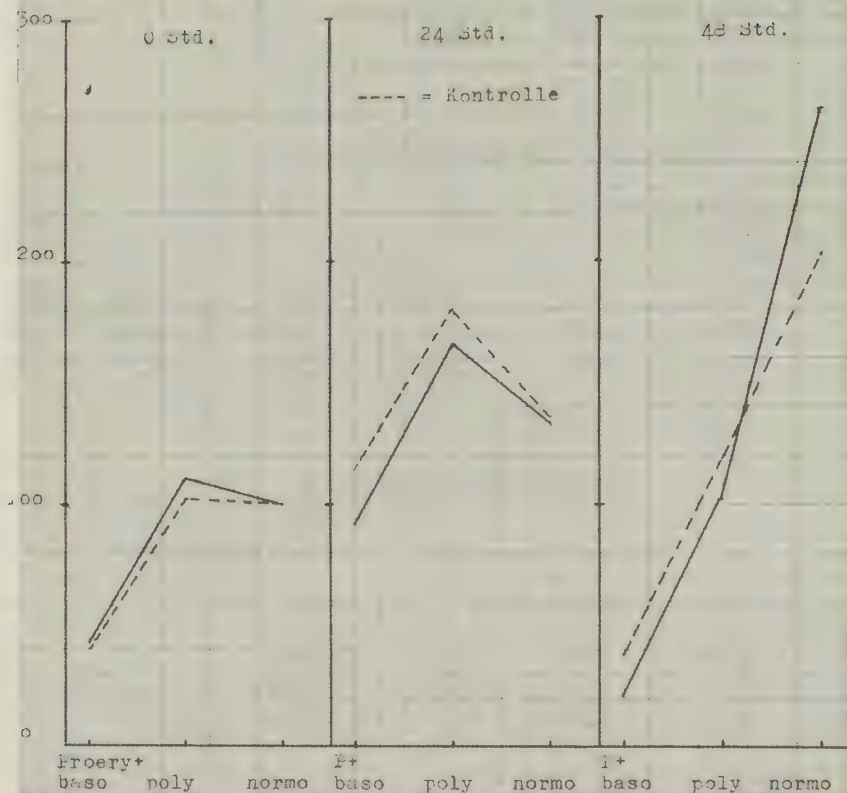
(NORMOBLASTENABSOLUTWERTE 0A bzw. 0K = 100)

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	5,1	-	3,9
BASO	38,1	91,7	17,2
POLY	110,1	165,8	101,8
NORMO	100,0	132,6	261,5

	0 K	24 K	48 K
	4,8	4,2	3,5
	35,1	109,8	34,3
	101,3	180,7	118,7
	100,0	135,6	203,3

Versuch 111

REIFUNGSKURVEN



V e r s u c h : X I I I

Fall:

An. Anna

geb.: 21. 9. 1909

Diagnose:

Magencarcinom

Hb: 66 %

Ery: 3,84 Mill.

	0 A	24 A	48 A
MYELOBLAST.	0,6	0,2	0,4
PROMYELO.	3,4	5,2	5,4
MYELOCYT.	12,4	14,2	19,6
JUGENDL.	15,4	17,6	12,4
STABKERN.	21,6	7,2	3,2
SEGMENT.	11,6	21,2	32,6
EOSINOPH.	2,0	1,2	3,4
LYMPHOCYT.	5,6	12,4	8,4
MONOCYT.	0,8	1,2	0,4
PROERYTHRO.	0,4	-	-
BASO	2,8	1,0	-
POLY	11,0	6,6	0,6
NORMO	12,2	11,8	13,2
RETIKULOC.	-	-	0,2
PLASMA.	0,2	0,2	0,2
MEGA-MAST.	-	-	-

	0 K	24 K	48 K
	0,6	1,2	0,8
	3,6	5,2	4,8
	11,6	17,8	18,4
	13,4	19,4	15,6
	15,6	5,0	9,8
	12,6	19,8	26,0
	3,8	1,8	2,2
	9,2	10,0	9,6
	1,6	0,8	2,0
	0,6	0,4	-
	4,4	0,6	-
	10,4	4,8	1,4
	11,6	13,2	9,0
	-	-	-
	1,0	-	0,4
	-	-	-

ZELLZAHLEN EINSCHLIESSLICH FEHLERBERECHNUNG

	0 A	24 A	48 A
MITTELWERTE	164,8	174,3	151,0
DISPERSION	17,96	17,24	15,37
M	3,67	3,52	3,14
ZELLZAHL	16500	17400	15100
± FEHLER	400	400	300

	0 K	24 K	48 K
	143,2	152,3	152,8
	16,02	12,18	17,13
	3,27	2,49	3,50
	14300	15200	15300
	300	300	400

ERGEBNIS DER DIFFERENZIERUNG VON JE 200 ERYTHROBLASTEN/REIHE (ERYTHROPOESE = 100%)

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	1,5	-	-
BASO	11,0	4,5	-
POLY	40,5	33,5	10,0
NORMO	47,0	62,0	90,0

	0 K	24 K	48 K
	2,0	1,5	-
	15,5	5,0	-
	41,0	36,0	18,0
	41,5	57,5	82,0

PROZENTANTEILE VON GRANULOPOESE, ERYTHROPOESE, SONSTIGE.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	67,0	66,8	77,0
ERYTHROP.	26,4	19,4	13,8
SONSTIGE	6,6	13,8	9,2

	0 K	24 K	48 K
GRANULOP.	61,2	70,2	77,6
ERYTHROP.	27,0	19,0	10,4
SONSTIGE	11,8	10,8	12,0

ABSOLUTWERTE DER VERSCHIEDENEN SYSTEME.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	11050	11620	11630
ERYTHROP.	4360	3380	2080
SONSTIGE	1090	2400	1390

	0 K	24 K	48 K
GRANULOP.	8750	10670	11870
ERYTHROP.	3860	2890	1590
SONSTIGE	1690	1640	1840

ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	70	-	-
BASO	480	150	-
POLY	1760	1130	210
NORMO	2050	2100	1870

	0 K	24 K	48 K
PROERYTHRO.	80	40	-
BASO	600	150	-
POLY	1580	1040	290
NORMO	1600	1660	1300

RELATIVE ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

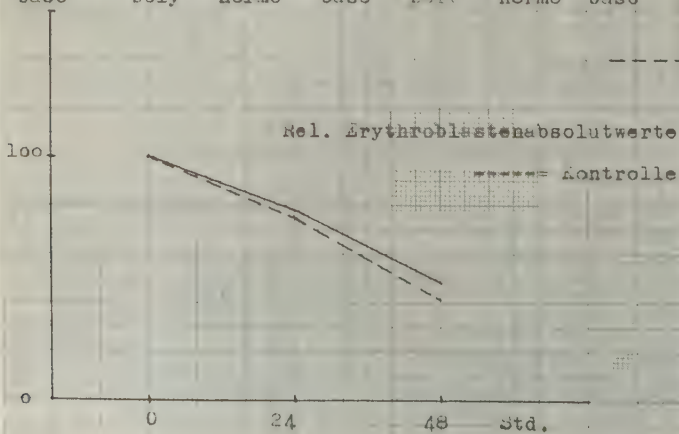
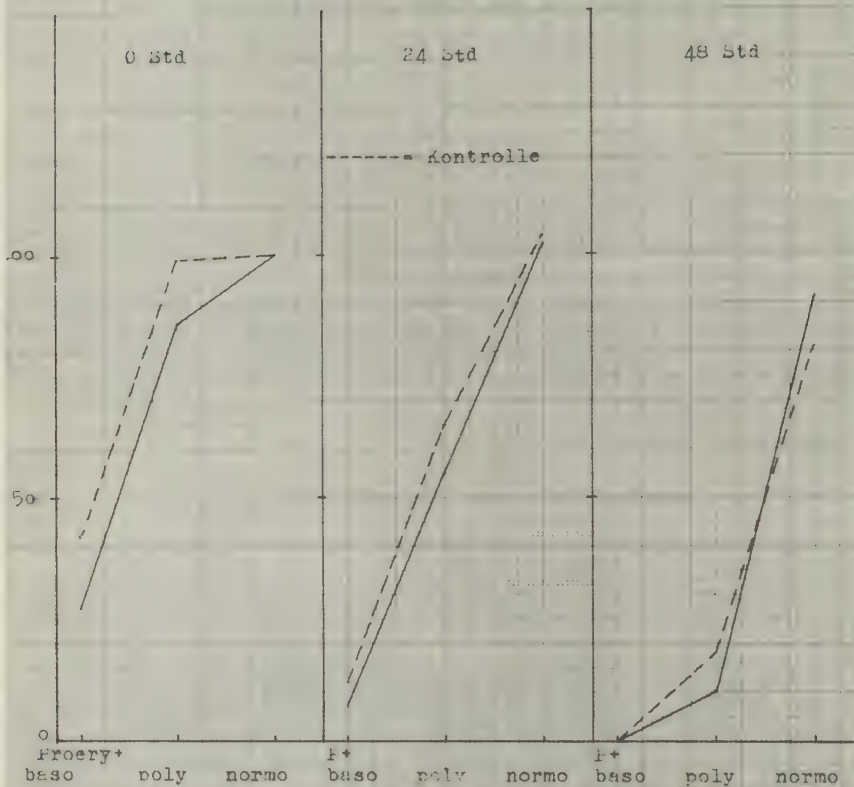
(NORMOBLASTENABSOLUTWERTE OA bzw. OK = 100)

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	3,4	-	-
BASO	23,4	7,3	-
POLY	85,8	55,1	10,2
NORMO	100,0	102,4	91,2

	0 K	24 K	48 K
PROERYTHRO.	5,0	2,5	-
BASO	37,5	9,4	-
POLY	98,7	65,0	18,1
NORMO	100,0	103,7	81,2

Versuch 1111

HEIFUNGSKURVEN



V e r s u c h : X V

Fall: P. Josef

geb.: 14. 4. 1923

Diagnose: Cushing - Syndrom

Hb: 100 %

Ery: 5,24 Mill.

MYELOGRAMME DER EXPLANTATE (DIFFERENZIERUNG VON JE 500 ZELLEN/REIHE = 100%)

	0 A	24 A	48 A
MYELOBLAST.	0,6	0,8	0,2
PROMYELO.	2,0	1,4	1,6
MYELOCYT.	8,4	8,8	11,0
JUGENDL.	9,4	6,6	6,4
STABKERN.	12,8	13,2	5,2
SEGMENT.	28,2	33,2	32,8
EOSINOPH.	2,4	3,0	1,8
LYMPHOCYT.	11,4	13,2	22,8
MONOCYT.	7,0	3,0	3,2
PROERYTHRO	0,2	-	-
BASO	1,4	1,0	-
POLY	6,6	5,6	2,6
NORMO	9,2	9,8	11,6
RETIKULOC.	-	-	-
PLASMA.	0,4	0,2	0,2
MEGA-MAST.	-	0,2	0,6

	0 K	24 K	48 K
	0,2	0,2	0,2
	2,0	2,8	1,2
	8,6	9,8	13,4
	11,2	8,0	6,2
	13,0	7,8	4,6
	30,6	33,6	39,0
	1,8	2,2	3,2
	13,4	15,4	20,0
	2,8	5,2	1,6
	0,6	0,4	-
	2,8	0,8	-
	4,6	6,0	1,4
	8,0	7,4	9,0
	-	0,2	-
	0,4	0,2	0,2
	-	-	-

ZELLZAHLEN EINSCHLIESSLICH FEHLERBERECHNUNG

	0 A	24 A	48 A
MITTELWERTE	196,8	203,3	206,2
DISPERSION	19,5	19,5	19,6
M	3,98	3,98	4,01
ZELLZAHL	19700	20300	20600
± FEHLER	400	400	400

	0 K	24 K	48 K
	207,7	202,7	216,5
	19,1	18,8	14,4
	3,89	3,85	2,88
	20800	20300	21700
	400	400	300

ERGEBNIS DER DIFFERENZIERUNG VON JE 200 ERYTHROBLASTEN/REIHE (ERYTHROPOESE = 100%)

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	1,5	0,5	-
BASO	6,5	5,0	-
POLY	38,0	34,0	12,5
NORMO	54,0	60,5	87,5

	0 K	24 K	48 K
	1,5	1,5	-
	10,0	3,5	-
	35,0	39,0	13,0
	53,5	56,0	87,0

PROZENTANTEILE VON GRANULOPOESE, ERYTHROPOESE, SONSTIGE.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	63,8	67,0	59,0
ERYTHROP.	17,4	16,4	14,2
SONSTIGE	18,8	16,6	26,8

	0 K	24 K	48 K
	67,4	64,4	67,8
	16,0	14,6	10,4
	16,6	21,0	21,8

ABSOLUTWERTE DER VERSCHIEDENEN SYSTEME.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	12570	13600	12150
ERYTHROP.	3430	3330	2930
SONSTIGE	3700	3370	5520

	0 K	24 K	48 K
	14020	13070	14720
	3330	2960	2260
	3450	4270	4720

ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	50	20	-
BASO	230	170	-
POLY	1300	1130	370
NORMO	1850	2010	2560

	0 K	24 K	48 K
	50	40	-
	330	100	-
	1170	1160	290
	1780	1660	1970

RELATIVE ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

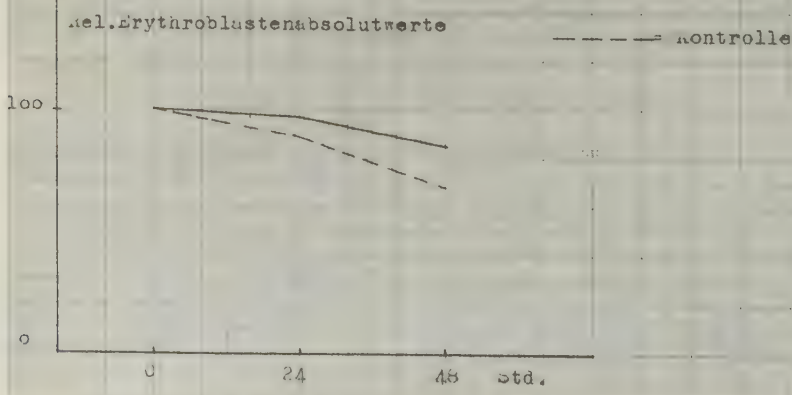
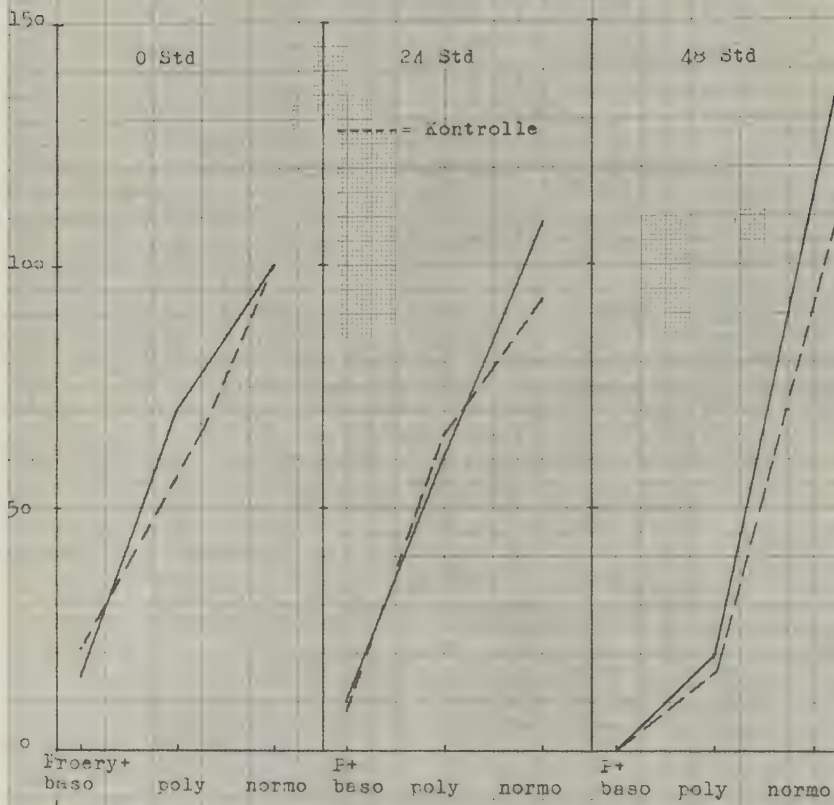
(NORMOBLASTENABSOLUTWERTE OA bzw. OK = 100)

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	2,7	1,1	-
BASO	12,4	9,1	-
POLY	70,2	61,1	20,0
NORMO	100,0	108,6	138,3

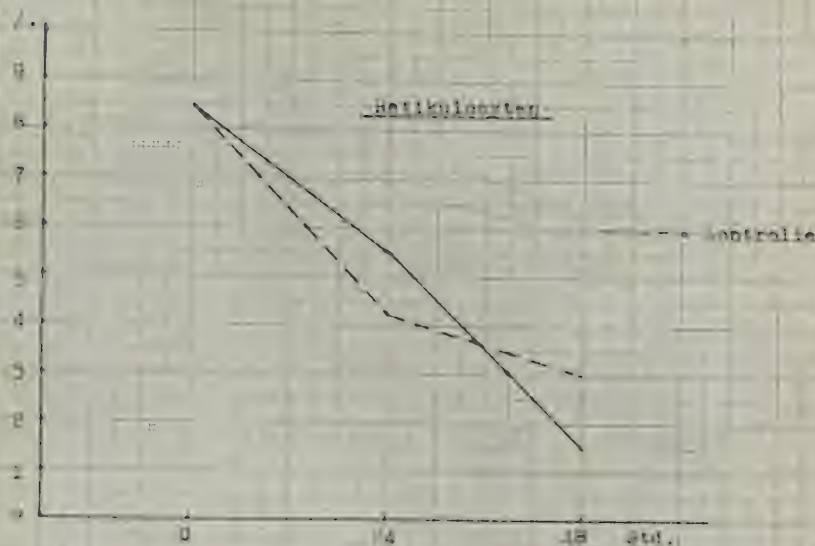
	0 K	24 K	48 K
	2,8	2,2	-
	18,5	5,6	-
	65,7	65,7	16,3
	100,0	93,2	110,6

Versuch XV

REIFUNGSKURVEN



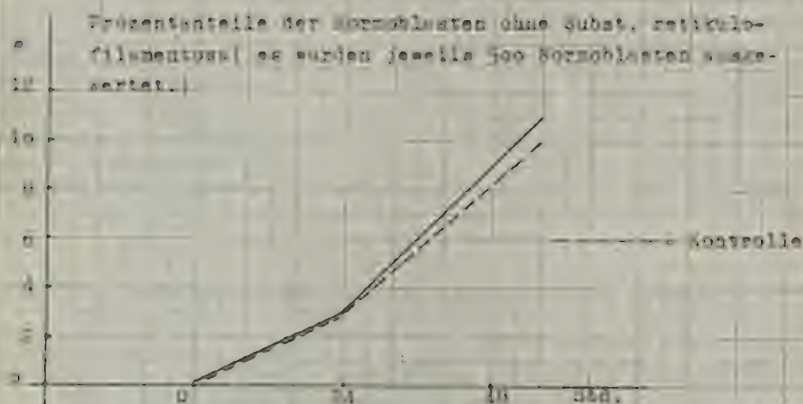
Versuch XV



0 h	12 h	18 h
6,5%	5,5%	1,5%

0 h	12 h	18 h
6,5%	4,25%	3,0%

Prozentanteile der Normoblasten ohne Subst. retikulo-filamentosa (es wurden jeweils 500 Normoblasten ausgezählt.)



0 h	12 h	18 h
0%	3%	11%

0 h	12 h	18 h
0%	3%	10%

V e r s u c h : XVI

Fall: H. Erika

geb.: 5. 3. 1930

Diagnose: Zustand nach Hepatitis

Hb: 80 %

Ery: 4,56 Mill.

MYELOGRAMME DER EXPLANTATE (DIFFERENZIERUNG VON JE 500 ZELLEN/REIHE = 100%)

	0A	24 A	48 A
MYELOBLAST.	0,5	0,4	-
PROMYELO.	1,6	2,6	2,2
MYELOCYT.	11,1	12,4	11,2
JUGENDL.	16,6	10,0	9,0
STABKERN.	12,5	13,0	13,4
SEGMENT.	26,0	29,4	31,6
EOSINOPH.	1,2	2,8	3,6
LYMPHOCYT.	11,2	12,6	11,8
MONOCYT.	0,8	1,6	1,6
PROERYTHRO	0,1	-	-
BASO	1,3	0,2	-
POLY	6,2	7,6	1,6
NORMO	10,2	7,2	13,4
RETIKULOC.	0,3	-	0,2
PLASMA.	0,3	0,2	0,4
MEGA-MAST.	0,1	-	-

	0 K	24 K	48 K
0,7	0,4	-	
1,5	3,0	2,0	
12,1	10,6	13,8	
17,4	9,6	8,4	
14,0	14,6	13,4	
17,9	34,6	39,2	
1,2	3,8	5,6	
13,8	12,8	10,4	
0,3	1,4	1,8	
-	-	-	
1,6	0,8	-	
8,0	3,2	0,6	
11,1	4,8	3,8	
-	-	0,2	
0,2	0,2	0,6	
0,2	0,2	0,2	

ZELLZAHLEN EINSCHLIESSLICH FEHLERBERECHNUNG

	0 A	24 A	48 A
MITTELWERTE	140,7	183,0	181,7
DISPERSION	18,9	17,7	17,0
M	3,86	3,61	3,47
ZELLZAHL	14100	18300	18200
± FEHLER	400	400	400

	0 K	24 K	48 K
150,6	187,8	174,2	
22,1	17,8	22,0	
4,52	3,64	4,49	
15100	18800	17400	
500	400	500	

ERGEBNIS DER DIFFERENZIERUNG VON JE 200 ERYTHROBLASTEN/REIHE (ERYTHROPOESE = 100%)

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	0,5	-	-
BASO	8,5	2,0	-
POLY	36,5	38,5	17,5
NORMO	54,5	59,5	82,5

	0 K	24 K	48 K
-	-	-	
7,5	3,0	-	
38,0	41,5	16,0	
54,5	55,5	84,0	

PROZENTANTEILE VON GRANULOPOESE, ERYTHROPOESE, SONSTIGE.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	69,5	70,6	71,0
ERYTHROP.	17,8	15,0	15,0
SONSTIGE	12,7	14,4	14,0

	0 K	24 K	48 K
GRANULOP.	64,8	76,6	82,4
ERYTHROP.	20,7	8,8	4,4
SONSTIGE	14,5	14,6	13,2

ABSOLUTWERTE DER VERSCHIEDENEN SYSTEME.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	9800	12900	12900
ERYTHROP.	2500	2700	2700
SONSTIGE	1800	2700	2600

	0 K	24 K	48 K
GRANULOP.	9800	14300	14300
ERYTHROP.	3100	1700	800
SONSTIGE	2200	2800	2300

ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	10	-	-
BASO	210	50	-
POLY	910	1040	470
NORMO	1370	1610	2230

	0 K	24 K	48 K
PROERYTHRO.	-	-	-
BASO	230	50	-
POLY	1180	710	130
NORMO	1690	940	670

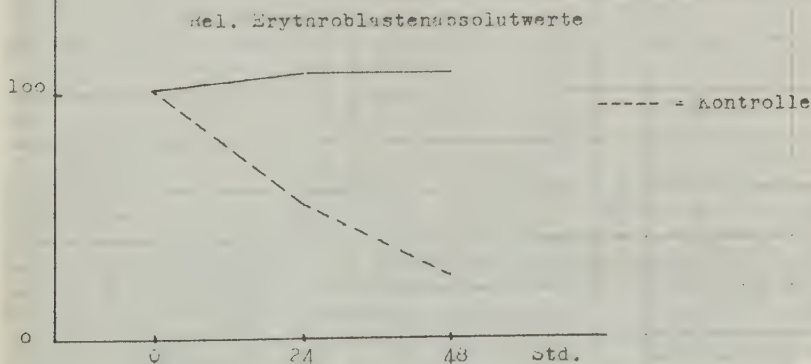
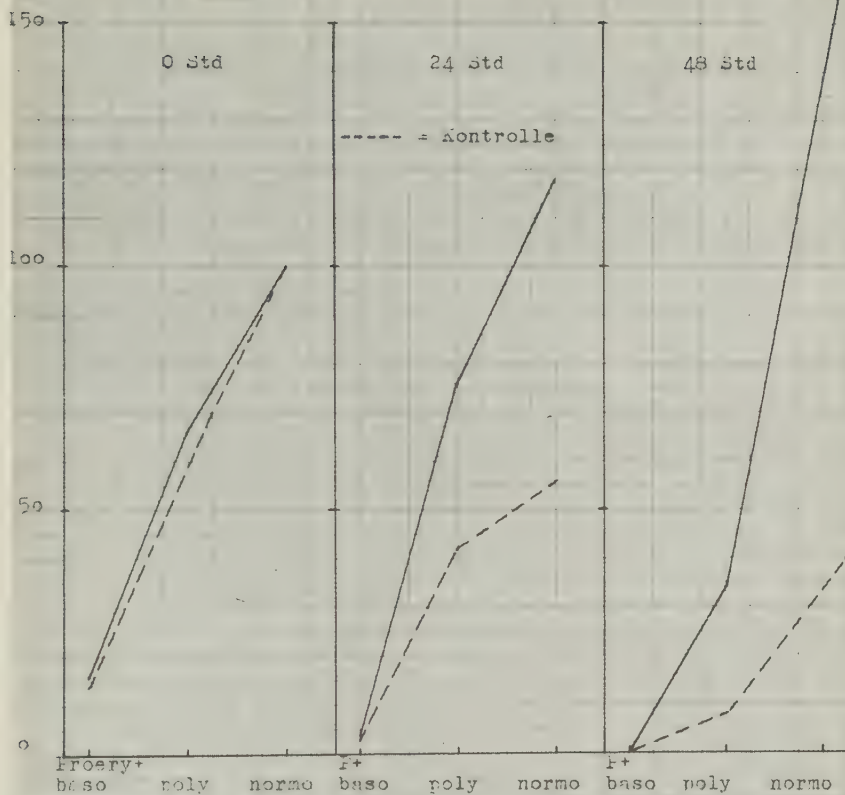
RELATIVE ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

(NORMOBLASTENABSOLUTWERTE OA bzw. OK = 100)

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	0,7	-	-
BASO	15,3	3,6	-
POLY	66,4	75,9	34,3
NORMO	100,0	117,5	162,7

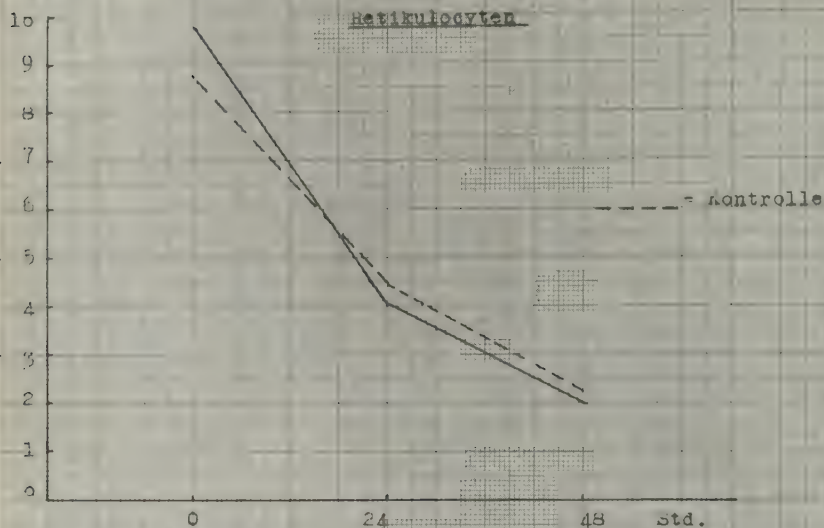
	0 K	24 K	48 K
PROERYTHRO.	-	-	-
BASO	13,6	2,9	-
POLY	69,8	42,0	7,7
NORMO	100,0	55,6	40,0

Versuch AV1
REIFUNGSKURVEN



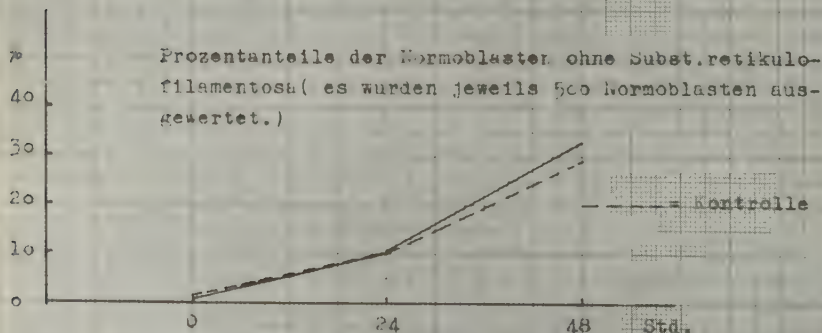
Versuch XVI

o/oo



0 A	24 A	48 A
9,75%	4,0%	2,0%

0 K	24 K	48 K
8,75%	4,5%	2,25%



0 A	24 A	48 A
1%	10%	33%

0 K	24 K	48 K
1%	10%	29%

V e r s u c h : XVII

Fall:

R. Isidor

geb.: 13. 4. 1915

Diagnose:

Polycythämia vera

Hb: 118 %

Ery: 5.74 Mill

MYELOGRAMME DER EXPLANTATE (DIFFERENZIERUNG VON JE 500 ZELLEN/REIHE = 100%)

	0 A	24 A	48 A
MYELOBLAST.	0,6	-	0,4
PROMYELO.	2,8	3,6	1,8
MYELOCYT.	14,0	11,2	12,6
JUGENDL.	13,0	9,6	11,8
STABKERN.	11,2	14,2	13,8
SEGMENT.	18,4	33,0	41,0
EOSINOPH.	2,8	2,0	1,4
LYMPHOCYT.	3,6	3,4	3,4
MONOCYT.	2,2	1,6	0,4
PROERYTHRO.	0,6	0,6	-
BASO	3,0	1,0	0,4
POLY	10,6	7,8	2,8
NORMO	16,6	11,0	10,0
RETIKULOC.	0,2	-	-
PLASMA.	0,2	0,4	0,2
MEGA-MAST.	0,2	0,6	-

	0 K	24 K	48 K
	0,2	-	0,2
	3,6	4,4	4,6
	12,0	15,8	17,2
	16,0	14,4	17,8
	12,6	4,0	8,6
	24,2	31,0	37,6
	2,2	2,8	2,2
	1,8	4,6	3,8
	-	0,6	1,6
	0,6	-	-
	5,2	1,0	0,2
	9,2	8,4	0,8
	12,2	12,4	4,6
	-	-	-
	0,2	0,2	-
	-	0,4	0,8

ZELLZAHLEN EINSCHLIESSLICH FEHLERBERECHNUNG

	0 A	24 A	48 A
MITTELWERTE	156,0	172,7	153,8
DISPERSION	21,8	14,5	15,9
M	4,46	2,96	3,25
ZELLZAHL	15600	17300	15400
± FEHLER	450	300	350

	0 K	24 K	48 K
	157,0	171,1	150,7
	16,7	12,1	16,6
	3,42	2,48	3,39
	15700	17100	15100
	350	250	350

ERGEBNIS DER DIFFERENZIERUNG VON JE 200 ERYTHROBLASTEN/REIHE (ERYTHROPOESE =100%.

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	2,0	2,0	-
BASO	10,0	7,0	2,0
POLY	34,5	39,5	23,0
NORMO	53,5	51,5	75,0

	0 K	24 K	48 K
	2,0	-	-
	16,0	3,0	1,0
	34,5	35,0	13,0
	47,5	62,0	86,0

PROZENTANTEILE VON GRANULOPOESE, ERYTHROPOESE, SONSTIGE.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	62,8	73,6	82,8
ERYTHROP.	30,8	20,4	13,2
SONSTIGE	6,4	6,0	4,0

	0 K	24 K	48 K
	70,8	72,4	88,2
	27,2	21,8	5,6
	2,0	5,8	6,2

ABSOLUTWERTE DER VERSCHIEDENEN SYSTEME.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	9800	12700	12800
ERYTHROP.	4800	3500	2000
SONSTIGE	1000	1100	600

	0 K	24 K	48 K
	11100	12400	13300
	4300	3700	900
	300	1000	900

ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	90	70	-
BASO	480	250	40
POLY	1660	1380	460
NORMO	2570	1800	1500

	0 K	24 K	48 K
	90	-	-
	690	110	10
	1480	1300	120
	2040	2290	770

RELATIVE ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

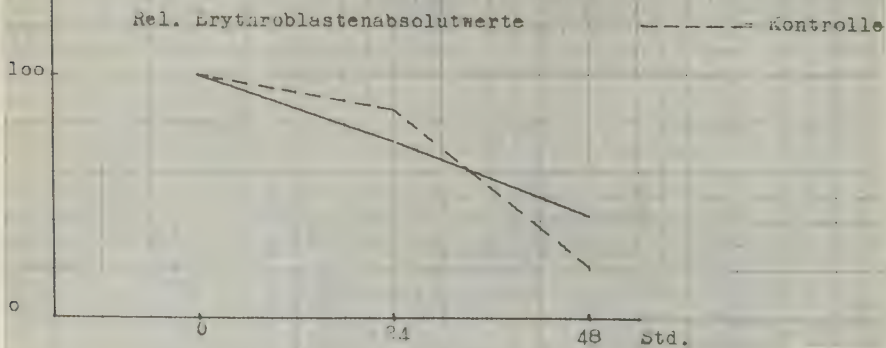
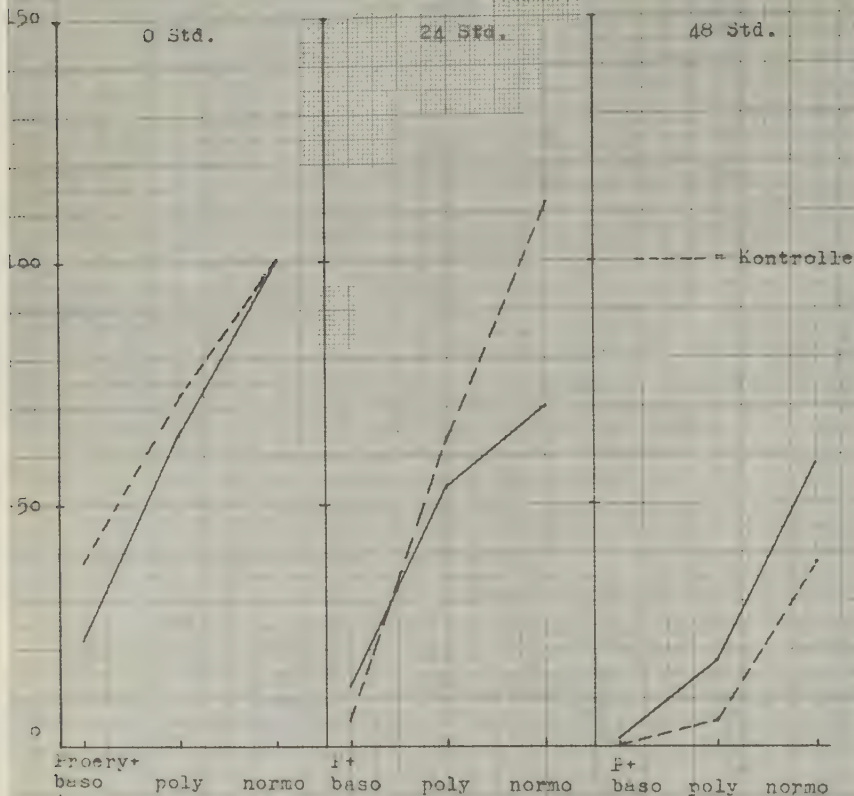
(NORMOBLASTENABSOLUTWERTE OA bzw. OK = 100)

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	3,5	2,7	-
BASO	18,6	9,7	1,5
POLY	64,6	53,7	17,9
NORMO	100,0	70,0	58,3

	0 K	24 K	48 K
	4,4	-	-
	33,8	5,3	0,4
	72,5	63,7	5,8
	100,0	112,2	37,7

Versuch AV11

REIFUNGSKURVEN



V e r s u c h : X I X

Fall: D. Irene

geb.:

Diagnose: Encephalitis, Polyradiculoneuritis

Hb: 85 %

Ery: 4,28 Mill.

	0 A	24 A	48 A
MYELOBLAST.	0,6	0,6	-
PROMYELO.	3,0	2,8	1,8
MYELOCYT.	22,0	21,2	25,8
JUGENDL.	9,8	9,8	8,8
STABKERN.	13,6	7,0	8,2
SEGMENT.	13,8	18,2	21,4
EOSINOPH.	2,8	3,2	4,2
LYMPHOCYT.	4,6	8,8	8,4
MONOCYT.	1,4	0,6	0,2
PROERYTHRO.	0,2	0,2	-
BASO	5,0	2,2	0,2
POLY	10,0	10,0	4,2
NORMO	12,8	15,2	16,4
RETIKULOC.	-	-	-
PLASMA.	0,4	-	-
MEGA-MAST.	-	0,2	0,4

	0 K	24 K	48 K
	0,6	0,6	0,6
	3,6	4,8	3,6
	19,0	25,2	27,2
	8,4	16,6	15,4
	15,8	5,0	2,6
	8,4	14,8	21,8
	4,0	3,2	3,4
	6,8	9,6	9,8
	1,6	-	0,2
	0,4	0,2	-
	5,2	0,8	-
	13,6	8,2	1,2
	12,2	10,8	13,8
	0,2	-	-
	0,2	-	-
	-	0,2	0,4

ZELLZAHLEN EINSCHLIESSLICH FEHLERBERECHNUNG

	0 A	24 A	48 A
MITTELWERTE	122,0	120,3	119,0
DISPERSION	11,6	11,8	12,9
M	2,37	2,40	2,63
ZELLZAHL	24400	24100	23800
± FEHLER	500	500	500

	0 K	24 K	48 K
	121,7	113,9	121,1
	9,7	12,1	12,4
	1,98	2,47	2,54
	24300	22800	24200
	400	500	500

ERGEBNIS DER DIFFERENZIERUNG VON JE 200 ERYTHROBLASTEN/REIHE (ERYTHROPOESE = 100%).

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO	1,0	0,5	-
BASO	15,5	6,5	1,0
POLY	36,0	37,0	19,0
NORMO	47,5	56,0	80,0

	0 K	24 K	48 K
	2,0	0,5	-
	16,5	3,0	-
	42,5	39,5	10,0
	39,0	57,0	90,0

PROZENTANTEILE VON GRANULOPOESE, ERYTHROPOESE, SONSTIGE.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	65,6	62,8	69,2
ERYTHROP.	28,0	27,6	20,8
SONSTIGE	6,4	9,6	9,0

	0 K	24 K	48 K
59,8	70,2	74,6	
31,4	20,0	15,0	
8,8	9,8	10,4	

ABSOLUTWERTE DER VERSCHIEDENEN SYSTEME.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	16000	15100	16500
ERYTHROP.	6800	6700	5000
SONSTIGE	1600	2300	2300

	0 K	24 K	48 K
14500	16000	18000	
7600	4600	3600	
2200	2200	2600	

ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	70	30	-
BASO	1050	440	50
POLY	2450	2480	950
NORMO	3230	3750	4000

	0 K	24 K	48 K
150	20	-	
1250	140	-	
3230	1820	360	
2970	2620	3240	

RELATIVE ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

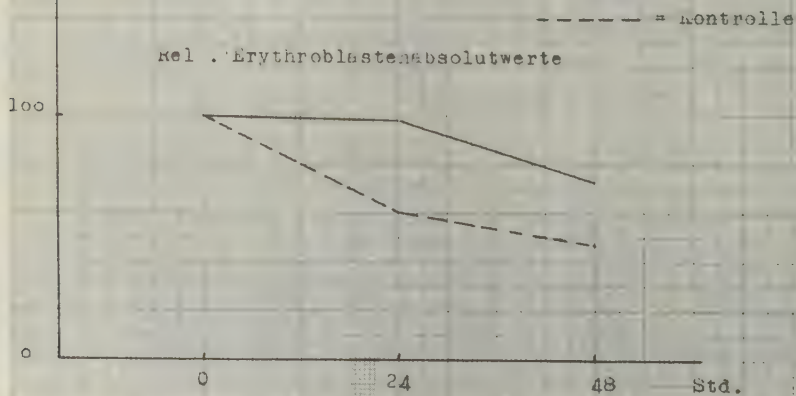
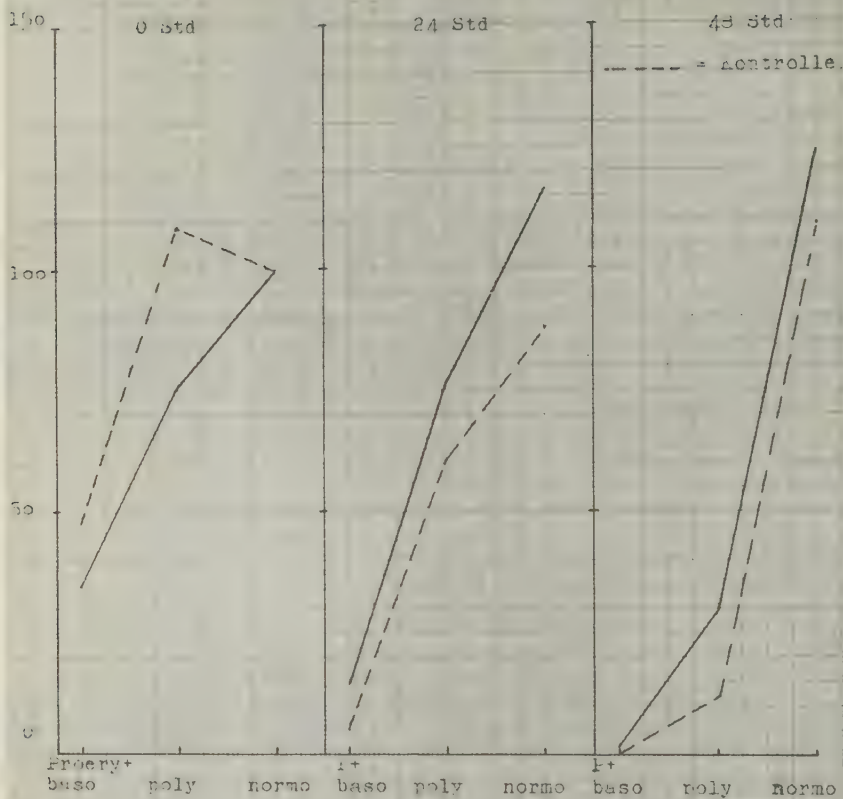
(NORMOBLASTENABSOLUTWERTE OA bzw. OK = 100)

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	2,1	0,9	-
BASO	32,5	13,6	1,5
POLY	75,8	76,7	29,1
NORMO	100,0	116,1	123,8

	0 K	24 K	48 K
5,5	0,6	-	
42,1	4,7	-	
108,7	61,2	12,1	
100,0	88,2	109,1	

Versuch LIX

REIFUNGSKURVEN



V e r s u c h : X X

Fall: F. Josef
geb.: 8. 3. 1902

Diagnose: Cardial bedingte cerebrale
Ischämien

Hb: 84 %

Ery: 4,22 Mill.

MYELOGRAMME DER EXPLANTATE (DIFFERENZIERUNG VON JE 500 ZELLEN/REIHE = 100%)

	0 A	24 A	48 A
MYELOBLAST.	-	0,4	-
PROMYELO.	2,0	0,6	0,8
MYELOCYT.	15,4	13,4	11,4
JUGENDL.	15,8	14,6	8,6
STABKERN.	20,4	14,4	7,4
SEGMENT.	22,4	35,6	39,2
EOSINOPH.	7,0	4,0	8,6
LYMPHOCYT.	5,2	2,2	11,4
MONOCYT.	-	0,6	0,4
PROERYTHRO.	0,2	0,4	-
BASO	1,0	1,2	0,2
POLY	4,8	5,0	2,8
NORMO	5,4	6,4	9,2
RETIKULOC.	-	-	-
PLASMA.	0,2	0,4	-
MEGA-MAST.	0,2	0,8	-

	0 K	24 K	48 K
	0,2	0,2	-
	2,0	1,2	0,4
	20,2	14,0	12,4
	16,0	16,2	11,6
	18,8	6,6	3,4
	22,0	25,0	46,8
	6,4	3,8	9,0
	4,2	8,2	4,8
	0,2	-	1,6
	-	0,4	-
	1,2	3,8	-
	4,0	9,6	2,8
	3,2	10,4	6,4
	-	-	-
	0,6	0,6	0,2
	1,0	-	0,6

ZELLZAHLEN EINSCHLIESSLICH FEHLERBERECHNUNG

	0 A	24 A	48 A
MITTELWERTE	136,2	158,2	149,2
DISPERSION	19,4	12,0	16,9
M	3,95	2,46	3,47
ZELLZAHL	13600	15800	14900
± FEHLER	400	300	400

	0 K	24 K	48 K
	116,2	154,0	140,2
	13,7	15,4	20,2
	2,81	3,14	4,13
	11600	15400	14000
	300	300	400

ERGEBNIS DER DIFFERENZIERUNG VON JE 200 ERYTHROBLASTEN/REIHE (ERYTHROPOESE = 100%)

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	1,0	3,0	-
BASO	10,0	7,0	1,0
POLY	43,0	38,0	19,0
NORMO	46,0	52,0	80,0

	0 K	24 K	48 K
	-	2,0	-
	12,0	13,0	1,0
	47,0	37,0	26,0
	41,0	48,0	73,0

PROZENTANTEILE VON GRANULOPOESE, ERYTHROPOESE, SONSTIGE.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	83,0	83,0	76,0
ERYTHROP.	11,4	13,0	12,2
SONSTIGE	5,6	4,0	11,8

	0 K	24 K	48 K
	85,6	67,0	83,6
	8,4	24,2	9,2
	6,0	8,8	7,2

ABSOLUTWERTE DER VERSCHIEDENEN SYSTEME.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	11300	13100	11300
ERYTHROP.	1500	2100	1800
SONSTIGE	800	600	1800

	0 K	24 K	48 K
	9900	10300	11700
	1000	3700	1300
	700	1400	1000

ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	20	60	-
BASO	150	150	20
POLY	640	800	340
NORMO	690	1090	1440

	0 K	24 K	48 K
-	-	70	-
	120	480	10
	470	1370	340
	410	1780	950

RELATIVE ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

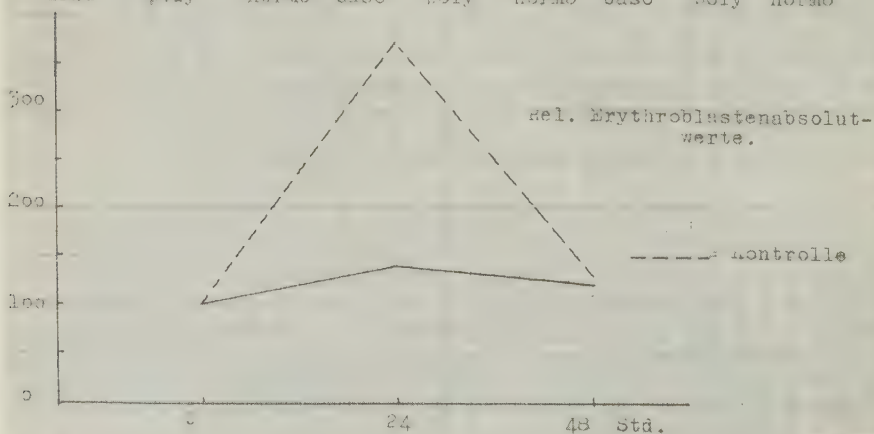
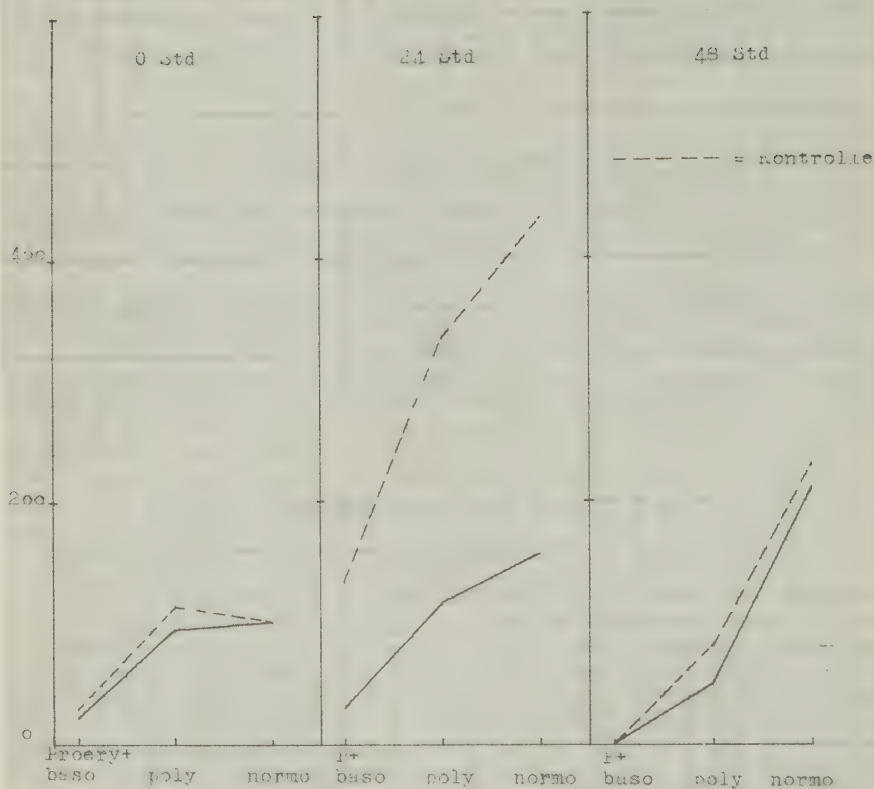
(NORMOBLASTENABSOLUTWERTE OA bzw. OK = 100)

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	2,9	8,7	-
BASO	21,7	21,7	2,9
POLY	92,7	115,9	49,2
NORMO	100,0	157,9	208,7

	0 K	24 K	48 K
-	-	17,0	-
	29,2	117,0	2,4
	114,6	334,1	82,9
	100,0	434,1	231,7

Versuch XX

REIFUNGSKURVEN



V e r s u c h : XXI

Fall: M. Johann

geb.: 26. 9. 1920

Diagnose: Hypernephrom mit Lungen-
metastasen

Hb: 41 %

Ery: 4,45 Mill.

MYELOGRAMME DER EXPLANTATE (DIFFERENZIERUNG VON JE 500 ZELLEN/REIHE = 100%)

	0 A	24 A	48 A
MYELOBLAST.	0,4	0,4	0,2
PROMYELO.	3,4	1,2	2,0
MYELOCYT.	18,4	24,0	18,8
JUGENDL.	9,2	13,0	9,0
STABKERN	5,4	5,6	4,2
SEGMENT.	20,6	29,0	33,6
EOSINOPH.	1,4	0,8	2,2
LYMPHOCYT.	6,2	2,0	4,2
MONOCYT.	1,4	0,8	2,8
PROERYTHRO	0,2	-	-
BASO	4,8	4,2	1,2
POLY	16,8	9,0	5,0
NORMO	11,2	9,6	16,8
RETIKULOC.	-	-	-
PLASMA.	0,4	-	-
MEGA-MAST.	0,2	0,4	-

	0 K	24 K	48 K
	0,2	0,2	0,2
	2,8	1,2	4,0
	16,8	24,0	17,8
	12,2	9,0	12,4
	5,0	1,8	4,4
	20,8	38,2	33,0
	1,6	0,4	1,0
	4,6	4,0	7,2
	2,0	0,6	3,0
	-	0,2	-
	4,2	1,4	1,2
	15,2	8,2	3,8
	14,0	10,4	11,4
	-	-	-
	0,4	0,2	0,4
	0,2	0,2	0,2

ZELLZAHLEN EINSCHLIESSLICH FEHLERBERECHNUNG

	0 A	24 A	48 A
MITTELWERTE	122,1	121,6	114,4
DISPERSION	13,1	7,9	10,9
M	2,65	1,61	2,23
ZELLZAHL	12200	12200	11400
± FEHLER	300	200	200

	0 K	24 K	48 K
	117,1	120,6	116,1
	12,1	14,5	17,7
	2,47	2,96	3,62
	11700	12100	11600
	300	300	400

ERGEBNIS DER DIFFERENZIERUNG VON JE 200 ERYTHROBLASTEN/REIHE (ERYTHROPOESE =100%.

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	0,5	-	-
BASO	17,0	12,0	3,5
POLY	48,0	42,0	24,0
NORMO	34,5	46,0	72,5

	0 K	24 K	48 K
	0,5	0,5	-
	13,0	6,0	3,0
	45,0	36,5	27,0
	41,5	57,0	70,0

PROZENTANTEILE VON GRANULOPOESE, ERYTHROPOESE, SONSTIGE.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	58,8	74,0	70,0
ERYTHROP.	33,0	22,8	23,0
SONSTIGE	8,2	3,2	7,0

	0 K	24 K	48 K
	59,4	74,8	72,8
	33,4	20,2	16,4
	7,2	5,0	10,8

ABSOLUTWERTE DER VERSCHIEDENEN SYSTEME.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	7200	9000	8000
ERYTHROP.	4000	2800	2600
SONSTIGE	1000	400	800

	0 K	24 K	48 K
	7000	9100	8400
	3900	2400	1900
	800	600	1300

ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	20	-	-
BASO	680	330	90
POLY	1920	1180	620
NORMO	1380	1290	1890

	0 K	24 K	48 K
	20	10	-
	510	140	60
	1750	880	510
	1620	1370	1330

RELATIVE ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

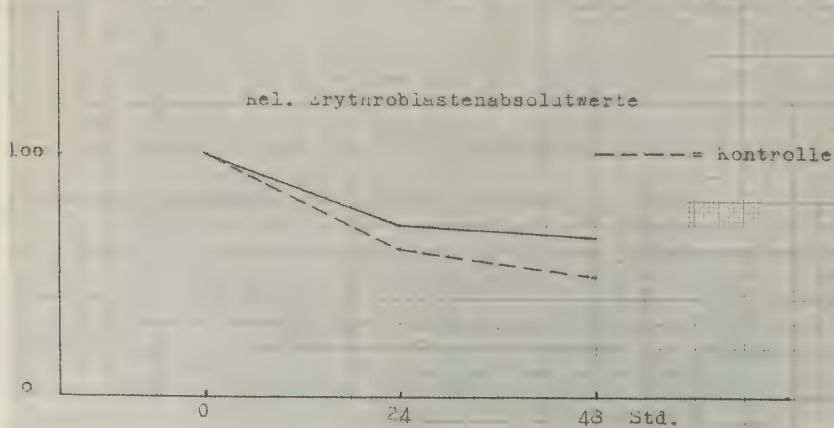
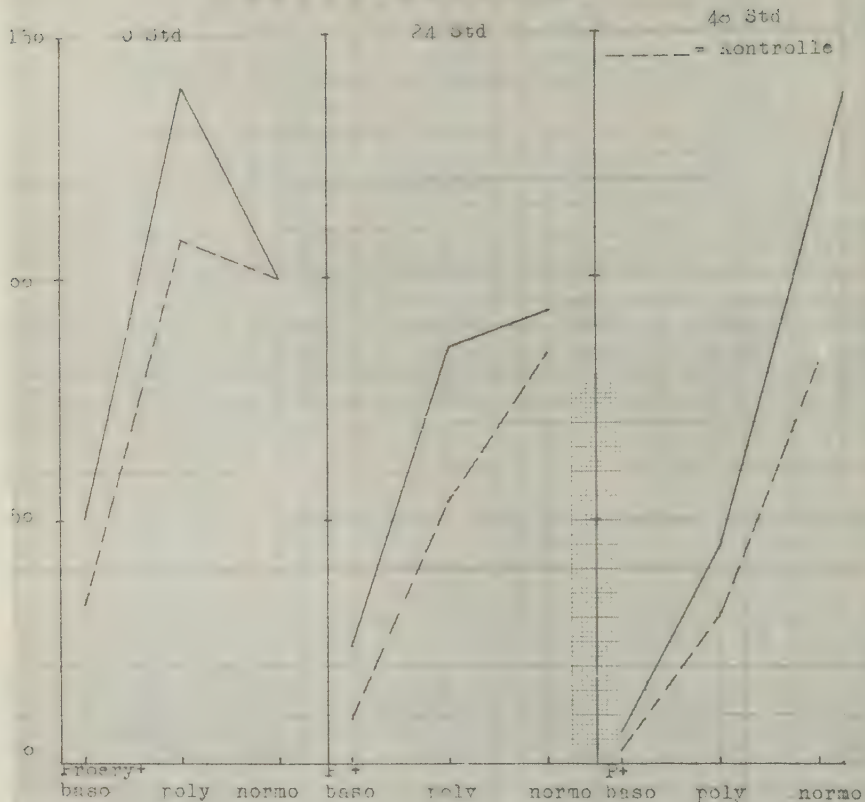
(NORMOBLASTENABSOLUTWERTE 0A bzw. 0K = 100)

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	1,4	-	-
BASO	49,2	23,9	6,5
POLY	139,1	85,5	44,9
NORMO	100,0	93,4	136,9

	0 K	24 K	48 K
	1,2	0,6	-
	31,4	8,6	3,6
	108,0	54,3	31,4
	100,0	84,5	82,1

Versuch 221

REIFUNGSKURVEN



V e r s u c h : XXII

Fall: B. Xaver
 geb.:

Diagnose: Malignom

Hb: 88 %

Ery: 4,65 Mill.

MYELOGRAMME DER EXPLANTATE (DIFFERENZIERUNG VON JE 500 ZELLEN/REIHE = 100%)

	0 A	24 A	48 A
MYELOBLAST.	0,8	0,2	-
PROMYELO.	5,2	2,4	0,4
MYELOCYT.	13,4	10,4	4,4
JUGENDL.	10,2	6,4	5,4
STABKERN.	14,6	7,6	6,2
SEGMENT.	22,2	34,6	46,0
EOSINOPH.	22,4	23,4	23,8
LYMPHOCYT.	2,2	1,0	3,8
MONOCYT.	0,2	1,8	0,6
PROERYTHRO	0,6	-	-
BASO	1,2	0,6	-
POLY	3,0	5,2	0,4
NORMO	3,2	5,6	8,4
RETIKULOC.	-	-	-
PLASMA.	0,4	0,2	-
MEGA-MAST.	0,4	0,6	0,6

	0 K	24 K	48 K
	0,2	0,2	-
	3,6	5,0	1,2
	19,2	13,8	8,6
	7,4	7,6	11,2
	11,2	7,2	5,8
	26,0	38,8	45,4
	19,0	19,2	19,8
	3,2	2,2	2,8
	0,2	0,8	0,4
	1,0	0,2	-
	1,4	0,4	0,6
	4,8	2,0	0,6
	2,0	2,2	3,2
	-	-	-
	0,6	0,2	0,2
	0,2	0,2	0,2

ZELLZAHLEN EINSCHLIESSLICH FEHLERBERECHNUNG

	0 A	24 A	48 A
MITTELWERTE	157,8	176,0	156,6
DISPERSION	14,3	12,8	12,9
M	2,89	2,62	2,65
ZELLZAHL	31500	35200	31300
± FEHLER	600	500	500

	0 K	24 K	48 K
	157,8	172,5	147,8
	14,8	15,7	14,9
	3,02	3,20	3,04
	31500	34500	29600
	600	600	600

ERGEBNIS DER DIFFERENZIERUNG VON JE 200 ERYTHROBLASTEN/REIHE (ERYTHROPOESE = 100%)

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	5,0	1,0	-
BASO	15,0	6,0	-
POLY	39,0	49,0	9,0
NORMO	41,0	44,0	91,0

	0 K	24 K	48 K
	8,0	2,0	-
	16,0	3,0	3,0
	50,0	51,0	27,0
	26,0	44,0	70,0

PROZENTANTEILE VON GRANULOPOESE, ERYTHROPOESE, SONSTIGE.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	88,8	85,0	86,2
ERYTHROP.	8,0	11,4	8,8
SONSTIGE	3,2	3,6	5,0

	0 K	24 K	48 K
	86,6	91,8	92,0
	9,2	4,8	4,4
	4,2	3,4	3,6

ABSOLUTWERTE DER VERSCHIEDENEN SYSTEME.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	28000	29900	27000
ERYTHROP.	2500	4000	2700
SONSTIGE	1000	1300	1600

	0 K	24 K	48 K
	27300	31700	27200
	2900	1600	1300
	1300	1200	1100

ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	120	40	-
BASO	380	240	-
POLY	980	1960	240
NORMO	1020	1760	2460

	0 K	24 K	48 K
	230	30	-
	460	50	40
	1450	820	350
	760	700	910

RELATIVE ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

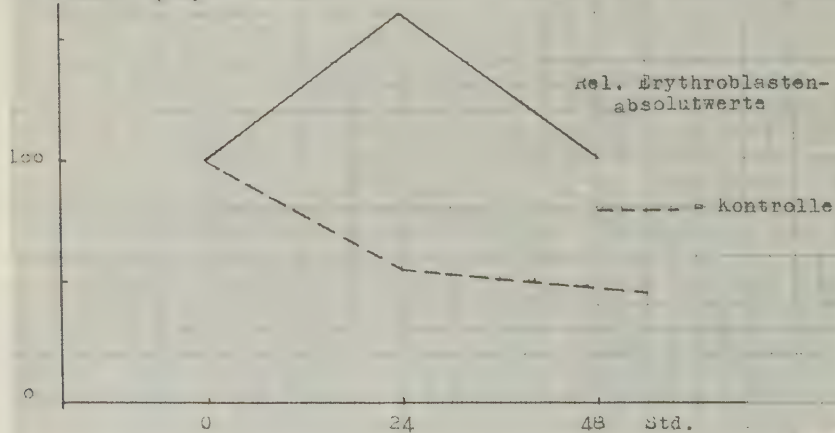
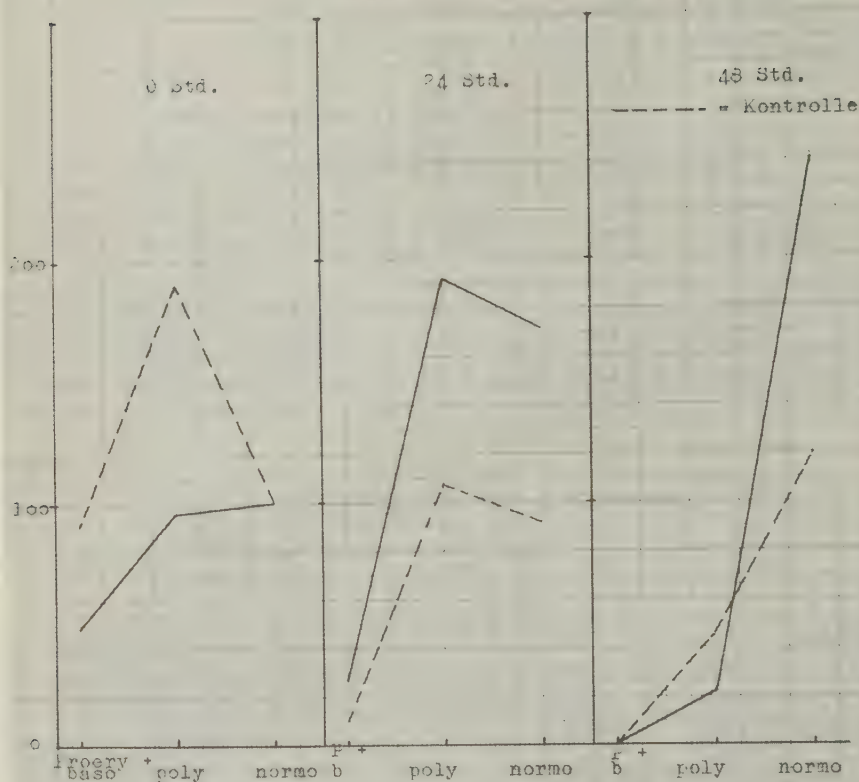
(NORMOBLASTENABSOLUTWERTE OA bzw. OK = 100)

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	11,7	3,9	-
BASO	37,2	23,4	-
POLY	96,0	192,1	23,4
NORMO	100,0	172,5	241,2

	0 K	24 K	48 K
	30,5	3,9	-
	60,5	6,5	5,3
	190,8	107,8	46,0
	100,0	92,1	119,7

Versuch 411

REIFUNGSKURVEN



V e r s u c h : XXIII

Fall: Schn. Gottfried

geb.: 2. 4. 1934

Diagnose: Icterus haemolyticus

Hb: 75 %

Ery: 3,51 Mill

MYELOGRAMME DER EXPLANTATE (DIFFERENZIERUNG VON JE 500 ZELLEN/REIHE = 100%)

	0 A	24 A	48 A
MYELOBLAST.	0,2	1,2	0,4
PROMYELO.	1,4	1,4	1,6
MYELOCYT.	9,6	10,6	11,8
JUGENDL.	10,8	4,8	6,4
STABKERN.	5,8	5,4	6,2
SEGMENT.	12,2	19,8	25,4
EOSINOPH.	0,8	1,2	2,4
LYMPHOCYT.	3,4	5,6	8,6
MONOCYT.	0,6	1,8	1,0
PROERYTHRO.	2,8	0,2	-
BASO	10,8	2,2	0,2
POLY	22,2	19,4	5,2
NORMO	18,6	25,8	30,8
RETIKULOC.	-	-	-
PLASMA.	0,4	0,4	-
MEGA-MAST.	0,4	0,2	-

	0 K	24 K	48 K
	1,6	0,6	0,4
	0,8	1,8	3,6
	7,4	12,0	12,2
	10,6	6,6	5,6
	9,2	6,8	6,0
	7,8	20,6	33,4
	1,4	1,4	4,2
	2,8	7,2	9,6
	0,4	1,0	5,8
	3,8	0,2	0,2
	10,6	1,4	0,6
	23,0	20,6	3,8
	20,0	19,6	14,0
	-	-	-
	0,2	-	0,2
	0,4	0,2	0,4

ZELLZAHLEN FINSCHLIESSLICH FEHLERBERECHNUNG

	0 A	24 A	48 A
MITTELWERTE	64,54	75,70	68,50
DISPERSION	8,5	9,8	8,1
M	1,73	1,99	1,65
ZELLZAHL	64500	75700	68500
FEHLER	1700	2000	1700

	0 K	24 K	48 K
	67,37	74,87	72,54
	9,8	7,9	9,9
	2,01	1,66	2,04
	67400	74900	72500
	2000	1700	2000

ERGEBNIS DER DIFFERENZIERUNG VON JE 200 ERYTHROBLASTEN/REIHE (ERYTHROPOESE = 100%)

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	4,25	0,75	-
BASO	17,50	3,75	0,25
POLY	42,50	39,50	14,00
NORMO	35,75	56,00	85,75

	0 K	24 K	48 K
	5,75	0,50	0,25
	19,25	2,50	1,00
	40,50	48,50	20,50
	34,50	48,50	78,25

PROZENTANTEILE VON GRANULOPOESE, ERYTHROPOESE, SONSTIGE.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	40,8	44,4	54,2
ERYTHROP.	54,4	47,6	36,2
SONSTIGE	4,8	8,0	9,6

	0 K	24 K	48 K
	38,8	49,8	65,4
	57,4	41,8	18,6
	3,8	8,4	16,0

ABSOLUTWERTE DER VERSCHIEDENEN SYSTEME.

	0 A	24 A	48 A
GRANULOP.	26300	33700	37100
ERYTHROP.	35100	35900	24800
SONSTIGE	3100	6100	6600

	0 K	24 K	48 K
	26100	37300	47400
	38700	31300	13500
	2600	6300	11600

ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	1490	270	-
BASO	6140	1350	50
POLY	14920	14180	3470
NORMO	12550	20100	21280

	0 K	24 K	48 K
	2230	160	30
	7450	780	140
	15670	15180	2770
	13350	15180	10560

RELATIVE ABSOLUTWERTE DER ERYTHROBLASTEN

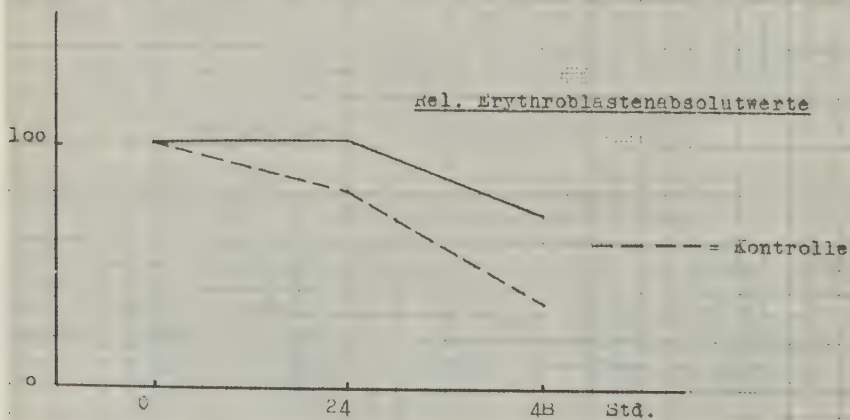
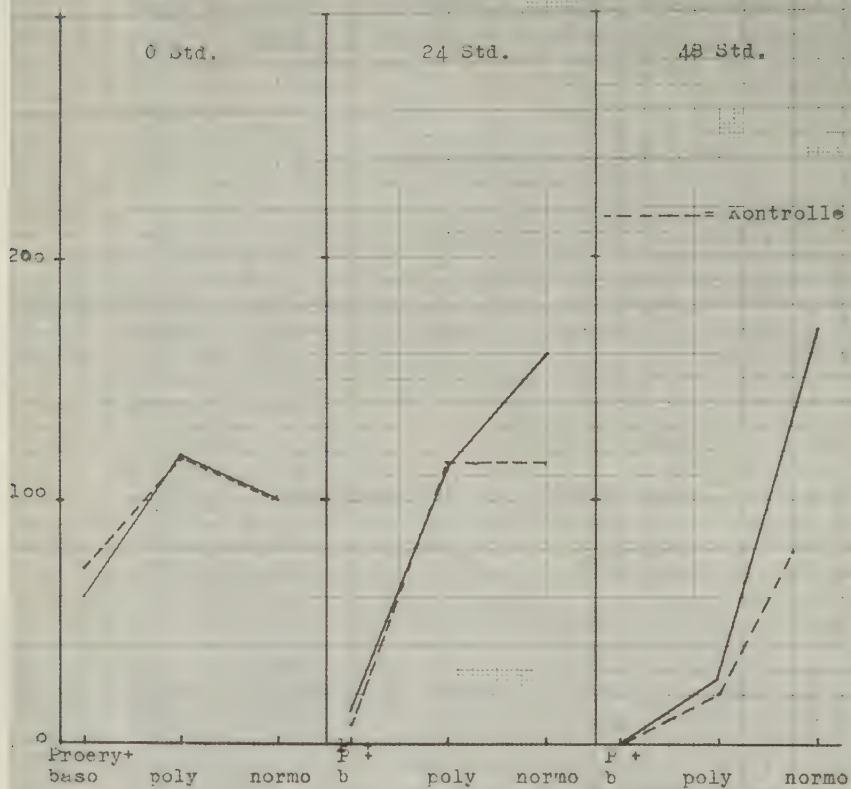
(NORMOBLASTENABSOLUTWERTE OA bzw. OK = 100)

	0 A	24 A	48 A
PROERYTHRO.	11,8	2,1	-
BASO	48,8	10,7	0,4
POLY	118,8	112,9	27,7
NORMO	100,0	160,1	169,5

	0 K	24 K	48 K
	16,7	1,2	0,2
	55,8	5,8	1,0
	117,3	113,7	20,7
	100,0	113,7	79,1

Versuch XIII

REIFUNGSKURVEN



D i s k u s s i o n

Die Versuchsergebnisse lassen zwei Deutungsmöglichkeiten der Compound A-Wirkung auf das Knochenmark in vitro zu.

1. Die Stimulierung der Erythroblasten-Reifeteilungen, also der proliferativen Vorgänge in der Erythropoese, die bereits G l e y und D e l o r postulierten und B o r c h e r s an Deckglaskulturen feststellen konnte, ließ sich zwar nicht an allen Versuchen eindeutig nachweisen, doch scheint sie besonders gut in den Versuchsergebnissen XVI und XXIII zum Ausdruck zu kommen.

Es tritt natürlich die Frage auf, ob und in welchem Ausmaß sich die Ergebnisse der Deckglaskultur und die der Suspensionskultur vergleichen lassen, d. h. ob das Knochenmark im Gerinnsel der Deckglaskultur und im flüssigen Medium der Suspensionskultur die gleichen proliferativen und evolutiven Potenzen besitzt und entwickeln kann.

M a t o t h u. Mitarb. fanden 1958 in Suspensionskulturen weit geringere Zellvermehrung als mit anderen Kulturmethoden.

O s g o o d u. Mitarb. wiesen 1954 und 1955 auf die entscheidende Bedeutung der Höhe der Mediumschicht über den Zellen für deren Wachstum hin und bauten ihre "gradient tissue culture method" auf diesen Erkenntnissen auf. Bei Berücksichtigung dieses für jede Zellart eigentümlichen "Gradient-Faktors" konnten O s g o o d und Mitarb. anhaltendes Wachstum von Knochenmarkzellen über mehrere Jahre erzielen. Auch B e r m a n und P o w s n e r u.a. fanden im Gegensatz zu M a t o t h intensive Zellvermehrungen in der Suspensionskultur. Zweifellos hängt die Ausnützung der proliferativen Potenzen der Markzellen ganz außerordentlich von der angewandten Kulturtechnik ab und schwankt auch bei Einhaltung einer bestimmten Methode ohne erkennbare Ursachen von Fall zu Fall. Schon geringe Differenzen in der Zusammensetzung des Kulturmediums - z.B. allein die Schwankungen der Qualität des verwendeten Aqua bidestillata - können diese Unterschiede bedingen. Die Tatsache, daß auch in unseren Versuchen die proliferationsstimulierende Wirkung des 11-Dehydrocorticosterons nicht durchweg zum

Ausdruck kommt, kann einmal auf den individuellen Schwankungen des jeweils verwendeten Markpunkttates beruhen, zum anderen auf der von uns benützten Methodik, bei der aus Gründen der optimalen Zählbarkeit des Explantates die Suspensionskultur im "roller-tube" auch noch in ständiger Bewegung gehalten wurde, die Zellen also nie "zur Ruhe kamen." Während B e r m a n n und P o w s n e r in ihren Kulturen einen stetigen Anstieg der Normoblastenzahlen bis 48 Std. und darüber hinaus verzeichnen konnten, war dies bei unseren Kontrollserien nur in wenigen Ausnahmen der Fall. Eine Klärung der stimulierenden Wirkung des 11-Dehydrocorticosterons war auch mit Hilfe des stathmokineticischen Index nach M a u r i nicht zu erreichen. Möglicherweise sind die Zellen im Stadium der Metaphase den mechanischen Belastungen der Kultur im Roller nicht gewachsen und gehen zugrunde.

Eine Stimulierung der Ausreifung der Erythroblasten, die B o r c h e r s aus seinen Beobachtungen folgerte, können wir auf Grund der Änderungen unserer Reifungskurven nicht mit Sicherheit bestätigen, obwohl besonders der steile Abfall der polychromatischen Erythroblasten im Versuch XXII diese Deutung nahelegt. Auch für die Ausreifung der Zellen in vitro gelten die oben gemachten Einwände betreffend die verschiedenen Kulturmethoden. B e r m a n n und P o w s n e r (1959) betonen, daß die Maßstäbe für eine Beurteilung der Reifung für jede Kulturmethode speziell ermittelt werden müssen. Andererseits zeigen die Reifungskurven für Deckglaskulturen von B o r c h e r s und unsere Reifungskurven der Kontrollen keine wesentlichen Unterschiede.

2. Der z. T. erhebliche Unterschied der Normoblastenwerte nach 48 Stunden in der Steroid- und in den Kontroll-Kulturen ist mit Sicherheit auf den Einfluss des Steroids zurückzuführen. Diese Wirkung des Compound A kann auf verschiedene Weise erklärt werden.

a) Eine Hemmung der Normoblastenentkernung durch Compound A würde die gefundene Kumulation von Normoblasten erklären. Eine Entkernung der Normoblasten ist unter den Bedingungen

der Zellkultur zwar denkbar, sie wurde von B o r c h e r s (1952), später von A l b r e c h t und von B e s s i s auch in vitro beobachtet und im Zeitrafferfilm festgehalten (Ausstoßung des pyknotischen Kernes), aber die Bedingungen der Suspensionskultur machen diesen, vermutlich an gewisse erhaltene Markstrukturen gebundenen Vorgang doch sehr unwahrscheinlich. Nach den Befunden von B o r c h e r s und unseren eigenen Beobachtungen nimmt der Prozentsatz von Normoblasten, die keine Substantia granulofilamentosa mehr besitzen, mit zunehmender Kulturdauer in beiden Ansätzen gleichmäßig zu und erreicht nach 48 Stunden 50 % und mehr. Die Normoblasten durchlaufen also das Retikulocytenstadium bereits vor der Entkernung, was auch in vivo von B o r c h e r s und O e f e l e i n, sowie von A l b r e c h t und v. R i e s e n bei gewissen Anämieformen beobachtet werden konnte. Mit dem Verlust der Substantia granulofilamentosa geht aber beim Erythrocyten der Verlust der Atmung parallel, die ungranulierte Zelle vermag ihren Energiebedarf ganz überwiegend nur noch aus der Glykolyse zu decken. Die Entkernung ist aber ganz offenbar ein stark energieverbrauchender Prozeß, verbunden mit kräftigen Kontraktionen des Plasmas. Der Verlust der Substantia granulofilamentosa geht somit allem Anschein nach parallel mit dem Verlust der Entkernungsfähigkeit.

Würde, wie angenommen, eine Hemmung der Entkernung vorliegen, so müßten naturgemäß die Retikulocytenwerte der Kontrollen ansteigen. Da dies nicht nachzuweisen war, scheidet diese Möglichkeit in unseren Kulturen aus. Nach Befunden von B o r c h e r s an Deckglaskulturen ist vielmehr das Gegenteil anzunehmen. B o r c h e r s fand in Kulturen mit 11-Dehydrocorticosteron weit mehr freie Normoblastenkerne als in den Kontrollen. Wir prüften diese Befunde an den Ausstrichen des Versuches XXIII nach und konnten diese Ergebnisse nicht bestätigen. Wir fanden in den 24 Stunden-Ausstrichen der Kulturen mit 11-Dehydrocorticosteron auf 100 intakte Normoblasten 82 freie Kerne, in den Kontrollen 76. Zelluntergang oder Entkernung sind also in den ersten 24 Stunden in beiden Kulturreihen gleich groß.

Aufgrund dieses Befundes muß also, da die Normoblastenwerte in den Kulturen mit Steroidzusatz erheblich über den Werten der Kontrollen liegen, in den ersten 24 Std. eine Proliferationssteigerung und beschleunigte Ausreifung der polychromatischen Erythroblasten stattgefunden haben. Die oben nur mit Einschränkung angenommene Stimulierung der Proliferatíon und Ausreifung wird hierdurch bestätigt.

Abweichend von den Ergebnissen von B o r c h e r s sind unsere Befunde nach 48 Stunden. Auf 100 intakte Normoblasten kommen in den Kulturen mit 11-Dehydrocorticosteron 82 freie Normoblastenkerne, in den Kontrollen jedoch 181. Eine Entkernungssteigerung ist also völlig ausgeschlossen. Der Zelluntergang oder eine äquivalente Entkernung bleiben, wie wir sehen, unter dem Einfluß von 11-Dehydrocorticosteron über 48 Stunden konstant. Wenn, wie wir oben angeführt haben, eine Entkernungshemmung entfällt, und wir annehmen, daß die freien Kerne in unseren Kulturen nicht abgebaut werden können, da hierzu evtl. phagocytierende Zellelemente (Retikulumzellen) nötig sind, würde daraus folgen, daß eine Entkernung nur innerhalb der ersten 24 Stunden möglich ist.

b) Die weitere Zunahme freier Normoblastenkerne in den folgenden 24 Stunden in den Kontrollen, deutet auf die zweite Wirkungsmöglichkeit des 11-Dehydrocorticosterons hin, die in einer Verzögerung des normalerweise in der Kultur ablaufenden nekrobiotischen Verfalls der reifen Elemente liegt. Wie bereits B o r c h e r s feststellen konnte, werden von dieser "protektiven" Wirkung des 11-Dehydrocorticosterons nicht nur die kernhaltigen, sondern auch die kernlosen Erythrocyten erfaßt. Diese Wirkung ist besonders am weit "vitaleren" Eindruck, den die Zellen der Kulturen mit Steroidzusatz machen, ersichtlich. Aber auch die eindrucksvollen Ergebnisse des Versuches XXIII sprechen für diese Annahme. Diese Wirkung des 11-Dehydrocorticosterons ist nicht spezifisch, sondern auch anderen Steroiden der Nebennierenrinde, wie F e l d m a n u. Mitarb. 1953 zeigten, eigen.

Anschließend soll nun der Versuch unternommen werden, die in den Kulturen abgelaufenen Vorgänge anhand der Ergebnisse der Kultur XXIII zu reproduzieren.

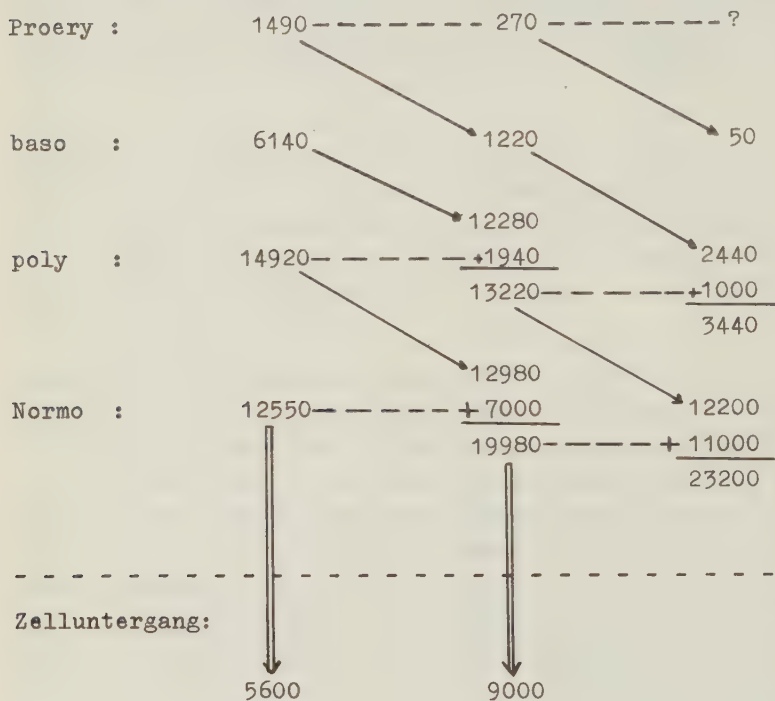
Die Grundlage hierzu bildet das Erythronmodell nach Weicker. Ein solches Vorgehen ist immer künstlich, da es fraglich ist, ob sich ein biologischer Prozeß in ein strenges Schema pressen läßt, da wir mit unseren Beobachtungen zu willkürlich festgesetzten Zeitpunkten nie den Ablauf, sondern nur den Zustand nach 24 Stunden, bzw. 48 Stunden erfassen können.

Ob alle Vorgänge, die wir nach 24 Stunden als abgelaufen annehmen auch wirklich abgelaufen sind, können wir mit unserer Methode nicht nachweisen. Die Reproduktion der Vorgänge kommt also der Rekonstruktion eines Vorganges nach Momentaufnahmen gleich.

Die gefundenen Werte der Reihe A mit Compound A

	0 Std.	24 Std.	48 Std.
Proery :	1490	270	-
baso :	6140	1350	50
poly :	14920	14180	3470
Normo :	12550	20100	21280

Der theoretisch mögliche Ablauf



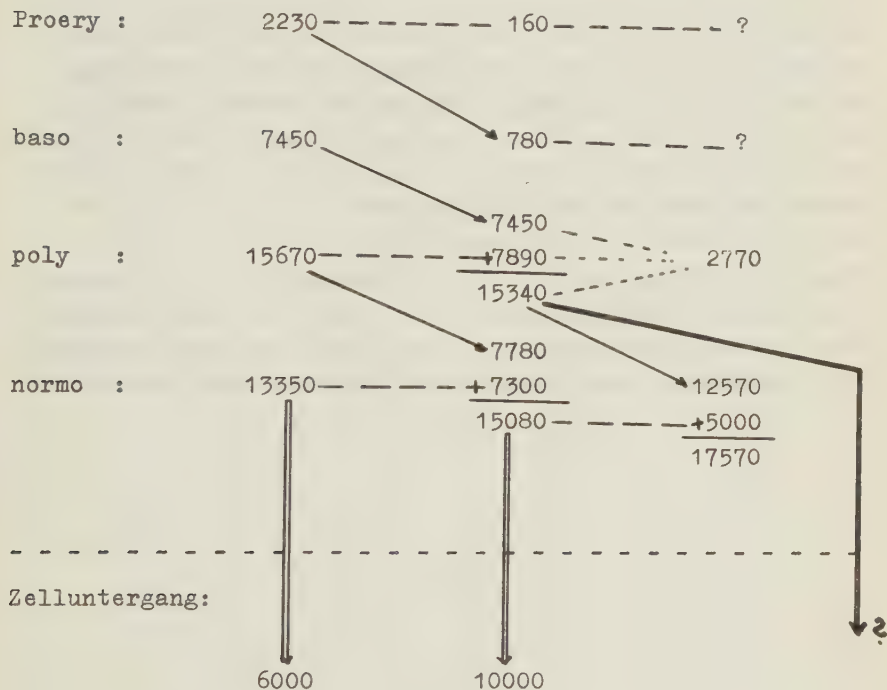
Zelluntergang 45%
Autolyse der Kerne
innerhalb 24 Std.

Zelluntergang 45%

Die gefundenen Werte der Kontrollreihe

	0 Std.	24 Std.	48 Std.
Proery :	2230	160	30
baso :	7450	780	140
poly :	15670	15180	2770
normo :	13350	15180	10560

Der theoretisch mögliche Ablauf



Zelluntergang 45%

Der Abbau der freien

Kerne muß schneller

verlaufen als in

Reihe A.

Zelluntergang

66%

Vergleichen wir den theoretisch möglichen Ablauf in Reihe A mit den gefundenen Werten, so ergibt sich eine verhältnismäßig gute Übereinstimmung. Eine Stimulierung der Reifeteilungen ist nach diesem Schema nur im Bereich der basophilen Erythroblasten anzunehmen.

Eine gute Übereinstimmung in den Werten der Normoblasten läßt sich nur unter der Annahme erreichen, daß jeder freie Normoblastenkern innerhalb von 24 Stunden abgebaut wird. Wie das Schema ergibt, reifen innerhalb von 24 Stunden 85% aller vorhandenen polychromatischen Erythroblasten zu Normoblasten aus.

Weniger klar lassen sich die Vorgänge in den Kontrollen rekonstruieren. Teilungen scheinen so gut wie nicht abgelaufen zu sein. Eine Ausreifung der Polychromatischen in den ersten 24 Stunden findet sicherlich statt, doch ist sie mit etwa 50% deutlich kleiner als in Reihe A. Für die Differenz zwischen den Normoblastenwerten nach 48 Std. gibt es verschiedene Erklärungsmöglichkeiten.

Einmal könnte der von uns mit 66% angegebene Zelluntergang zu gering sein und ein schnellerer Abbau der Kerne die gefundenen Werte vortäuschen, zum anderen wäre auch ein stärkerer Untergang polychromatischer Erythroblasten möglich.

Z u s a m m e n f a s s u n g

1. Einleitend werden in einem Überblick die Entwicklung der Hämatologie, die Problematik und der derzeitige Wissensstand der humoralen Steuerung der Erythropoese durch Erythropoetine dargestellt.
2. Die eigenen Untersuchungen wurden an einer Reihe von Knochenmarkexplantaten mit Hilfe der "roller-tube" Kulturmethode nach Berman und Powsner durchgeführt. Es wurde die erythropoetische Wirkung des 11-Dehydrocorticosteron auf das menschliche Knochenmark studiert. Es ergab sich dabei eine eindeutige Stimulierung der Erythroblastenreifung und möglicherweise auch der Zellproliferation. Besonders eindrucksvoll war die protektive Wirkung auf alle Zellelemente festzustellen.

L i t e r a t u r

1. Albrecht, M. Acta hämat. 6 (1951) 83
2. - - - - - Acta hämat. 8 (1953) 616
3. Albrecht, A. v. Riesen, I. Internist I (1960) 295
4. Alpen, E.L. Lajtha, L.G. van Dyke, D.G.
Nature 184 (1959) 1228
5. Beer, A.G. Folia hämat. 66(1942) 222
6. - - - - - Med. Klinik (1948) 409
7. Berman, M. Powsner, R.E. Blood 14 (1959) 1194
8. Bessis, M. Breton-Gorius, I. Path. et. Biol. 33
(1957) 411
9. Bessis, M. Path. et Biol. 33 (1957) 411
10. Bonsdorff, E. Jalavisto, E. Acta physiol. scand.
16 (1948) 150
11. Borchers, H.G. Diss. 1952 München
12. - - - - - Habilitationsschrift München 1960
13. Borchers, H.G. Oefelein, C. Med. Wschr. 14
(1960) 797
14. Boström, L. Acta med. scand. 131 (1948) 303
15. Carnot, P. Deflandré, Chr. Compt. rend. acad.
Sci. 143 (1906) 384
16. Contopoulos, A.N. van Dyke, D.C. Simpson, M.E.
Garcia, J.H. Huff, R.L. Williams, B.S.
Evans, H.M. Blood 8 (1953) 131
17. Contopoulos, A.N. Lawrence, J.H.
Feder. Proc. 13 (1954) 29
18. Crafts, R.C. Meinecke, H.A. Anat. Rec. 131
(1958) 465
19. Crosby, H.W. Blood 14 (1956) 399
20. van Dyke, D.C. Contopoulos, A.N. Williams, B.S.
Simpson, M.E. Lawrence, J.H. Evans, H.M.
Acta hämatol. 11 (1954) 203
21. van Dyke, D.C. Simpson, M.E. Contopoulos, A.N.
Evans, H.M. Blood 12 (1957) 539
22. Egli, R. Keller, H.M. Acta hämatol. 20 (1958) 356
23. - - - - - Schweiz. med. Wschr. 88 (1958) 1060

24. Feldman, I.D. Rachmilewitz, M. Stein, O.
Stein, J. Blood 8 (1953) 342
25. Finch, S.C. Crockett, C.L. Ross, J.F. Bayles, T.B.
Blood 6 (1951) 1034
26. Fisher, J.W. Endocrinology 64 (1959) 522
27. - - - - - Proc. soc. exper. Biol. N.Y. 97 (1958)
502
28. Fisher, J.W. Crook, J.J. Blood 19 (1962) 557
29. Fliedner, T.M. Cronkite, E.P. Bond, V.P.
Schweiz. med. Wschr. 89 (1959) 1061
30. Fried, W. Plzak, L.J. Jacobson, L.O. Goldwasser, W.
Proc. soc. exper. Biol. Med. 92 (1956) 203
31. Friederici, L. Klin. Wschr. 36 (1958) 132
32. - - - - - Der Erythrocyt Hühig-Verlag,
Heidelberg-Frankfurt 1958
33. Gardner, F.H. Nathan, D.G. Americ. J. med. Sci.
234 (1962) 81
34. Gley, P. Bull. acad. nat. Med. 27 (1952) 521
35. Gley, P. Delor, J. Compt. rend. soc. Biol.
149 (1955) 635
36. Gold, A.P. Michael, A.F. Pediatrics 23 (1959) 727
37. Gordon, A.S. Dornfest, B.S. Siegel, C.D.
Gottlieb, N. Feder. Proc. 17 (1958) 57
38. Gordon, A.S. Landau, D. Endocrinology 49 (1951) 497
39. Grant, W.C. Blood 10 (1955) 334
40. Grant, W.C. Root, W.S. Americ. J. physiol. (1953) 321
41. Hodgson, G. Tohá, J. Blood 9 (1954) 299
42. Hoff, F. Klinische Physiologie und Pathologie,
Thieme-Verlag Stuttgart 1962
43. Jacobsen, E.M. Davis, A.K. Alpen, E.L.
Blood 11 (1956) 937
44. Jacobsen, E. Plum, C.M. Acta physiol. scand 4
(1942) 272
45. Jacobson, L.O. Goldwasser, E. Fried, W. Plzak, L.
Nature 179 (1957) 633
46. Jacobson, L.O. Goldwasser, E. Gurney, C.W. Fried, W.
Plzak, L. Ann. N.Y. acad. Sci. 77 (1959) 551
47. Kinard, F.W. Griffin, F.F. Feder. Proc. 17 (1958) 86

48. Komija, E. Die zentralnervöse Regulation des
Blutbildes, Thieme-Verlag Stuttgart 1956
49. Labhardt Klinik der inneren Sekretion
Springer 1957
50. Leibetseder, F. Wiener Zschr. inn. Med. 29 (1948) 379
51. Linman, J.W. Bethel, F.H. Blood 11 (1956) 310
52. - - - - - J. lab. clin. Med. 49
(1957) 113
53. Linman, J.W. Bethel, F.H. Long, M.J.
J. lab. clin. Med. 51 (1958) 8
54. Linman, J.W. Korst, D.R. Bethel, F.H.
Ann. N.Y. acad. Sci. 77 (1959) 638
55. Linman, J.W. Long, M.J. Blood 13 (1958) 226
56. Linman, J.W. Long, M.J. Korst, D.R. Bethel, F.H.
J. lab. clin. Med. 54 (1959) 335
57. Linsk, J.A. Murray, C.K. Ann.intern.Med. 55(1961)831
58. Matoth, J. Biezunski, N. Sabo, G.
J. lab. a. clin. Med. 51 (1958) 420
59. Mirand, E.A. Prentice, T.C. Proc. soc. exper.
Biol. Med. 93 (1956) 473
60. Mirand, E.A. Prentice, T.C. Slaunwhite, W.R.
Ann. N.Y. acad. Sci. 77 (1959) 677
61. Müller, P.T. Arch. Hyg. 75 (1912) 290
62. Naets, J.P. Nature 182 (1958) 1516
63. - - - - - Nature 184 (1959) 371
64. Nakao, K. Takaku, F. Hirashima, K. Proc. soc.
exper. Biol. Med. 103 (1960) 47
65. Ninni, M. I reticulociti Pavia 1949
66. Okinata, J.A. Morikawa, A. Ino, S.
Klin. Wschr. 17. (1938) 1752
67. Osgood, E.E. Brooke, J.H. Blood 10 (1955) 1010
68. Osgood, E.E. Krippaehne, M.L. Exp. Cell Res. 9
(1954) 116
69. Osnes, S. Brit. med. J. 1958/11 1387
70. - - - - - Brit. med. J. 1959/11 650
71. - - - - - Brit. med. J. 1960/1 1153
72. Prentice, T.C. Mirand, E.A. Exper. med. Surg.
15 (1957) 176

73. Prentice, T.C. Mirand, E.A. Proc. soc. exper.
Biol. Med. 95 (1957) 231
74. Querido, A. Overbeck, G.A. Arch. intern. Pharma-
cydon. 59 (1938) 370
75. Rambach, W.A. Cooper, J.A.D. Alt, H.L.
Feder. Proc. 17 (1958) 128
76. Rambach, W.A. Shaw, R.A. Cooper, J.A.D. Alt, H.L.
Proc. Soc. exper. Biol. Med. 99 (1958) 482
77. Reissmann, K.R. Blood 5 (1950) 372
78. Remmele, W. Die humorale Steuerung der Erythropoese
Springer Verlag 1963
79. Rohr, K. Das menschliche Knochenmark, Thieme-Verlag
Stuttgart 1960
80. Rosenow, G. Z. exper. Med. 64 (1929) 452
81. Ruhenstroth-Bauer, G. Arch. exper. Path. Pharm. 32
(1950) 211
82. - - - - - . Arch. exper. Path. Pharm. 214
(1952) 464
83. - - - - - . Dtsche med. Wschr. 79 (1954) 1732
84. Schroeder, J.R. Gurney, C.W. Wackman, N.
Nature 181 (1958) 1537
85. Schwarz, F. Americ. J. Anat. 79 (1946) 75
86. Simpson, M.E. Evans, H.M. Rosenberg, U.
Endocrinology 64 (1959) 592
87. Stohlmann, F. jr. Rath, C.E. Rose, J.C.
Blood 9 (1954) 721
88. Undritz, E. Helv. med. acta (A) 13 (1946) 595
89. Vollmer, E.P. Gordon, A.S. Charipper, H.A.
Endocrinology 31 (1942) 619
90. Weicker, H. Klin. Wschr. 31 (1953) 637
91. - - - - - . Schweiz. Med. Wschr. 84 (1954) 1124
92. Weicker, H. Z. Klin. Med. 151 (1954) 1018
93. - - - - - . Handbuch der ges. Hämatologie Bd. I.
Urban & Schwarzenberg, Berlin-München-Wien
1957 Zellteilung und Zellteilungsstörung
94. White, A. Dougherty, T.F. Endocrinology 36
(1945) 16
95. Wolfers, H. Klin. Wschr. 29 (1951) 380

An dieser Stelle möchte ich Herrn Oberarzt Priv.-Doz.
Dr. H. G. Borchers für die Stellung des Themas und für
seine großzügige Unterstützung bei der Durchführung
der Arbeit danken.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir die
Ausführung dieser Arbeit ermöglichten.

München im Juni 1964

L e b e n s l a u f

Am 8. Februar 1938 wurde ich in Nürnberg als Sohn des Bundesbahn - Oberamtmanns Josef Singer und dessen Ehefrau Else, geb. Thiergärtner, geboren. In Nürnberg besuchte ich die Volksschule und anschließend die Dürer-Oberrealschule, deren Reifeprüfung ich im Juni 1958 ablegte.

Im Winter-Semester 1958 begann ich das Studium der Medizin an der Universität Erlangen. Nach bestandenem Physikum studierte ich im Sommer-Semester 1961 an der Universität Würzburg. Im Winter-Semester 1961/62 setzte ich das Studium an der Universität München fort. Im Sommer 1964 legte ich hier das medizinische Staatsexamen ab.

Das Thema der vorliegenden Inaugural-Dissertation wurde mir im Winter-Semester 1961/62 von Herrn Oberarzt Priv. Doz. Dr. H. G. Borchers gestellt.



